

Міністерство освіти і науки України  
Запорізький національний університет

Р.Ф. Амінов

## **ОСНОВИ ТОКСИКОЛОГІЇ**

Методичні рекомендації до практичних занять  
для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Хімія»  
освітньо-професійної програми «Хімія»

Затверджено Вченою радою ЗНУ  
Протокол №\_\_ від \_\_\_\_\_ р.

Запоріжжя  
2025

УДК 615.9(076.5)

Амінов Р.Ф. Основи токсикології: методичні рекомендації до практичних занять для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія». Запоріжжя : Запорізький національний університет, 2025. 57с.

Методичні рекомендації до практичних занять містить завдання і методичні вказівки до практичних робіт з визначення гострої токсичності, цитотоксичності на різних таксономічних групах організмів; виявлення хлорорганічних сполук, алкалоїдів; визначення токсикологічних параметрів дії солей важких металів на проростання насіння, гліколітичну активність дріжджів і активність мікроорганізмів ґрунту, а також контрольні питання, основні правила безпеки роботи в токсикологічній лабораторії та додатки.

Для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Хімія», які навчаються за освітньо-професійною програмою «Хімія».

Рецензент

*О.А. Брашко*, доктор біологічних наук, професор кафедри хімії  
Запорізького національного університету

Відповідальний за випуск

*В.І. Генчева*, кандидат біологічних наук, доцент, завідувач кафедри хімії  
Запорізького національного університету

|  |    |
|--|----|
| <b>Зміст</b>   |    |
| ВСТУП.....   | 4  |
| Інструкція з техніки безпеки .....   | 6  |
| <b>ПРАКТИЧНА РОБОТА №1.</b> Тема: Оцінка токсичності продуктів методом біотестування.....  | 9  |
| <b>ПРАКТИЧНА РОБОТА №2</b> Тема: Вивчення впливу нових сполук на поділ та ріст рослинних клітин (цитотоксичність сполук).Тема: Визначення якості ґрунту за допомогою насіння крес-салату.....  | 14 |
| <b>ПРАКТИЧНА РОБОТА №3.</b> Тема: Визначення хлорвмісних сполук в ґрунтах.....   | 28 |
| <b>ПРАКТИЧНА РОБОТА №4</b> Тема: Визначення основних токсикологічних параметрів при дії солей важких металів на проростання насіння.....   | 31 |
| <b>ПРАКТИЧНА РОБОТА №5.</b> Тема: Нейтралізація дії важких металів на проростання насіння за допомогою комплексону трилон Б. Тема: Нейтралізація токсичної дії фенолу бурштиновою кислотою. Тема: Визначення гострої токсичності сполук.....   | 35 |
| <b>ПРАКТИЧНА РОБОТА №6.</b> Тема: Вплив солей важких металів на активність мікроорганізмів ґрунту. Тема: Вплив солей важких металів на гліколітичну активність дріжджів. Тема: Якісне визначення гемолітичної отрути (соланіну) в картоплі. Тема: Визначення нітритів у ковбасах та м'ясопродуктах спектрофотометричним методом..... | 51 |
| Використана література .....   | 52 |
| Рекомендована література .....   | 53 |
| Інформаційні ресурси.....  | 54 |
| Додатки.....   | 55 |

## ВСТУП

Курс «Основи токсикології» належить до дисциплін циклу природничо-наукової підготовки здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Хімія».

**Метою** вивчення навчальної дисципліни «Основи токсикології» є набуття студентами комплексу знань щодо дії на організм людини та тварин токсичних речовин, їх надходження, розподілу і виведення з організму, основних синдромів отруєнь, методів прискореного виведення токсичних речовин із організму, антидотної терапії, симптоматичної терапії, а також набуття навичок поводження з токсичними речовинами та вмінь визначення токсичного впливу сполук на організм людини, тварин і рослин.

Основними **завданнями** вивчення дисципліни «Основи токсикології» є:

- засвоєння знань про механізми проникнення отрути через мембрани та наслідки цього для клітини та організму в цілому;
- токсико-кінетичні особливості різних видів отруєнь;
- метаболічні процеси перетворень отрути в організмі;
- вироблення навичок визначення гострої токсичності та цитотоксичності на різних таксономічних групах організмів.

Значна увага при викладанні дисципліни приділяється формуванню системи знань про дію на організм людини та тварин різноманітних токсичних речовин, шляхи їх надходження, сектори розподілу і шляхи виведення з організму; основні синдроми отруєнь, методи прискореного виведення токсичних речовин із організму, антидотну та симптоматичну терапію.

Особлива увага приділяється вивченню методів визначення гострої та хронічної токсичності, симптомам інтоксикації та наданню першої медичної допомоги при отруєнні важкими металами, лугами, кислотами, хлор- і фосфорорганічними сполуками, лікарськими засобами, отрутами рослинного та тваринного походження. Знання та вміння, здобуті студентами внаслідок вивчення дисципліни «Основи токсикології», знадобляться їм як фахівцям в процесі роботи на хімічних і промислових підприємствах або в організаціях та інших структурах національного господарства.

Основою для опанування цього курсу є навчальні дисципліни «Неорганічна хімія», «Органічна хімія», «Елементоорганічні сполуки», «Біохімія». Своєю чергою вивчений матеріал використовується під час опанування таких дисциплін, як «Біологічно активні речовини», «Великий практикум з біоорганічної хімії» та «Засоби знешкодження токсичних речовин».

Основне призначення методичних рекомендацій до практичних занять

- формування вмінь і навичок визначення токсичного впливу сполук на організм людини, тварин і рослин, по забезпеченню токсикологічної безпеки виробництв та охорони здоров'я людей від негативного впливу виробничої діяльності, а також самостійного розв'язування науково-дослідних задач.

В умовах дистанційного навчання проведення практичних робіт безпосередньо в лабораторії неможливо, а тому, для забезпечення якісного

засвоєння знань, вмінь та навичок використовуються альтернативні підходи виконання робіт.

Це включає в себе перегляд відеороликів виконання практичних робіт, як знятих самостійно в умовах лабораторій біологічного факультету ЗНУ, так і розміщених на різних доступних онлайн-сервісах (наприклад, YouTube). Переглядаючи відео виконання практичної роботи, студенти можуть набути досвіду спостереження за явищами і процесами; засвоїти знання про властивості досліджуваного об'єкта; сформувати вміння виконувати вимірювання, налаштовувати і керувати лабораторним обладнанням; робити розрахунки характеристик і параметрів дослідного зразка.

*За підсумками вивчення курсу студент повинен знати:*

- розділи токсикології як науки;
- класифікації токсичних речовин;
- основні синдроми отруєнь;
- методи прискореного виведення отруйних речовин із організму;
- методи антидотної терапії;
- методи симптоматичної терапії;
- шляхи потрапляння та виведення отрут з організму;
- методи вивчення токсичності речовин;
- методи виявлення токсичних речовин у воді, ґрунті, продуктах рослинного та тваринного походження;
- шляхи перетворення токсичних речовин в організмі.

Згідно з вимогами освітньо-професійної програми студенти повинні досягти таких *результатів навчання (компетентностей)*:

- класифікувати види отруєнь;
- надавати першу долікарську допомогу при отруєннях;
- надавати першу долікарську допомогу при токсичних ураженнях;
- застосовувати знання та навички, одержані під час вивчення даної дисципліни, в подальшій трудовій та навчальній діяльності.

## ІНСТРУКЦІЯ З ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ

Перед початком практичних занять студенти проходять інструктаж із техніки безпеки, який оформлюється у спеціальному журналі. Крім того, під час кожної роботи вони одержують усний інструктаж від викладача.

Працювати в лабораторії студенти повинні на постійному робочому місці тільки в халатах, застебнутих на всі гудзики. Довге волосся має бути підібране.

### ЗАГАЛЬНІ ПРАВИЛА

1. Робочі місця необхідно утримувати у чистоті, а при виконанні роботи – дотримуватись правил техніки безпеки.

2. Працювати необхідно акуратно, турбуючись про те, щоб не вносити забруднень до реактивів, що використовуються у хіміко-токсикологічному аналізі.

3. Прагнути вивчати якісні реакції на ті або інші токсичні хімічні речовини з можливо малими кількостями, або об'ємами їх розчинів, користуючись для реакцій переважно предметними скельцями, фарфоровими пластинками, чашками та тиглями.

4. При проведенні досліджень у пробірках забороняється нагрівання вмісту їх на відкритому полум'ї газового пальника, оскільки при цьому можливий викид гарячої рідини з ураженням очей та шкіри рук. Нагрівання пробірок з розчинами необхідно проводити на водяній бані, направивши отвір пробірки від себе і від інших працюючих, постійно перемішуючи вміст пробірки шляхом обережного струшування.

5. Всі роботи з речовинами, при дії яких утворюються шкідливі для організму гази і неприємно пахнучі сполуки, необхідно проводити у витяжній шафі. Категорично забороняється працювати з вказаними речовинами на робочому місці!

6. Для запобігання псування каналізаційної системи в лабораторії розчини кислот, лугів і інших агресивних речовин необхідно зливати в спеціально відведений для цих цілей посуд. Розчини йодидів, сполуки срібла і ртуті слід зливати в окремі ємності.

7. Необхідно перевіряти роботу газових пальників, оскільки при їх несправності в приміщенні лабораторії можуть нагромаджуватися продукти неповного згорання газу, що може стати причиною отруєння працюючих.

8. На робочому місці забороняється тримати особисті речі, за винятком навчальних посібників і робочого зошиту.

9. Під час виконання роботи і після її закінчення необхідно стежити за чистотою рук. Їх рекомендується мити спочатку водою, а потім – водою з милом.

10. Після закінчення роботи необхідно погасити газові пальники, вимити і поставити на місце використаний посуд, реактиви, вимкнути прилади!

## **ПРАВИЛА РОБОТИ З ТОКСИЧНИМИ РЕЧОВИНАМИ І БІОЛОГІЧНИМ МАТЕРІАЛОМ**

1. При роботі з сильно діючими речовинами і біологічним матеріалом слід суворо дотримуватись заходів особистої профілактики і обережності:

а) не торкатися до сильнодіючих речовин і біологічного матеріалу незахищеними руками;

б) не зберігати і не приймати їжу і воду в місцях роботи з сильнодіючими речовинами і біологічним матеріалом.

2. При роботі з концентрованими кислотами і лугами необхідно поводитися з ними обережно, стежити, щоб вони не потрапили на одяг і шкіру.

3. При розведенні концентрованої сульфатної кислоти необхідно обережно приливати кислоту до води, а не навпаки.

4. Луги, які знаходяться в твердому стані (калій гідроксид, натрій гідроксид), необхідно набирати з ємності за допомогою пінцета або шпателя, а подрібнення шматків слід проводити в спеціальних захисних окулярах, оскільки відлітаючі шматочки лугів дуже небезпечні для очей та волосся.

5. Розбавлені розчини кислот і лугів також небезпечні для очей і шкіри, тому при роботі з ними необхідно поводитися з обережністю.

6. З біологічним матеріалом необхідно працювати в гумових рукавичках. Після роботи використані інструменти, рукавички промити і продезінфікувати. Руки ретельно вимити з милом і продезінфікувати етанолом.

## **ПРАВИЛА РОБОТИ З ПОЖЕЖОНЕБЕЗПЕЧНИМИ РЕЧОВИНАМИ**

1. Нагрівання вогненебезпечних речовин (органічні розчинники) необхідно проводити без вогню, на заздалегідь нагрітій водяній або іншій бані.

2. Горючі рідини приливають до суміші реагуючих речовин з невеликої ємності (пробірки, колби).

3. Демонтаж приладів, в яких знаходяться горючі речовини, необхідно проводити після закінчення роботи і при вимкнених газових пальниках.

4. Забороняється зберігати горючі і легкозаймисті речовини поблизу вогню або сильно нагрітих електричних приладів.

5. Деякі гази (водень, ацетилен), спирти, легко киплячі вуглеводні (бензол, гексан), ацетон, діетиловий ефір і інші речовини можуть утворювати вибухові суміші з повітрям. Працювати з такими речовинами необхідно при включеній витяжній вентиляції для запобігання зменшення у приміщенні небезпечних концентрацій пари і газів.

6. Забороняється виливати відпрацьовані горючі рідини в каналізацію! Їх слід збирати в спеціальний, герметично закритий посуд.

## ПРАВИЛА РОБОТИ З ЕЛЕКТРОПРИЛАДАМИ

1. Робота в лабораторії повинна проводитися за наявності справного і обов'язково заземленого електроустаткування і приладів.

2. Всі несправності електроприладів, електромережі і іншого устаткування повинні усуватися тільки відповідними фахівцями.

3. Щоб уникнути нещасних випадків при проведенні досліджень з використанням електроапаратури (фотоелектроколориметрів та ін.) забороняється:

- а) використовувати прилади з пошкодженою ізоляцією проводки;
- б) залишати прилади включеними без нагляду;
- в) включати апаратуру в мережу, вольтаж якої не відповідає напрузі, необхідній для роботи приладів;
- г) замінювати запобіжники, що перегоріли, дротом;
- д) працювати з незаземленими приладами.

4. При роботі з електроприладами в лабораторії повинні знаходитися не менше двох чоловік.

## ЛІКВІДАЦІЯ ПОЖЕЖІ

1. У разі виникнення пожежі необхідно:

а) негайно вимкнути газові пальники, електронагрівальні прилади і вентиляцію;

б) винести з лабораторії весь посуд з вогненебезпечними речовинами;

в) викликати пожежну охорону і доповісти про це керівнику роботи і завідувачу кафедри;

г) застосовувати найефективніші для даного випадку засоби пожежогасіння.

2. Полум'я необхідно гасити наступними засобами:

а) при загорянні рідин, що не змішуються з водою (бензин, петролейний ефір та ін.) – вуглекислотними і порошковими вогнегасниками (ОВ), піском, ковдрою, забороняється застосовувати воду;

б) дроти або електроприлади, що знаходяться під напругою, що горять, – знеструмити і загасити за допомогою вуглекислотного вогнегасника (ОВ);

в) дерев'яні частини, що горять – всіма вогнегасними засобами;

г) при загорянні одягу на працюючому необхідно накрити ділянку, що горить, підручними засобами: рушником, халатом, ковдрою або щільною тканиною.



## НАДАННЯ ПЕРШОЇ ДОПОМОГИ ПОТЕРПІЛИМ В РЕЗУЛЬТАТІ НЕЩАСНИХ ВИПАДКІВ

1. При попаданні на шкіру концентрованої сульфатної кислоти її необхідно обережно витерти сухою тканиною або ватно-марлевим тампоном, а уражену ділянку промити водою і розчином натрій гідрокарбонату. Інші сильні кислоти акуратно змиваються водою, а потім розчином натрій гідрокарбонату.

2. Розбавлені кислоти швидко змивають водою з ураженої ділянки, після чого проводять обробку шкіри або очей 1%-вим розчином натрій гідрокарбонату, а потім знову водою.

3. При попаданні на шкіру концентрованих їдких лугів пошкоджене місце промивають водою і нейтралізують розведеною оцтовою або борною кислотою.

4. При попаданні в очі або на шкіру розбавлених розчинів лугів їх промивають водою, 1%-вим розчином борної кислоти, а потім знову – водою.

5. При попаданні на шкіру фенолу, броду та інших подразнюючих речовин ушкоджене місце необхідно промити органічним розчинником (спирт, ефір).

6. При опіках тіла уражену ділянку промивають 5-10%-вим розчином калій перманганату і накладають на нього тампон, змочений 5%-вим розчином таніну або спеціальним кремом від опіків.

7. Порізані місця слід обробити спиртовим розчином йоду і перев'язати бинтом. Мити рану водою і знімати кров, що згорнулася, забороняється.

8. У всіх випадках отруєння потерпілого перш за все необхідно вивести або винести на чисте повітря і до прибуття лікаря надати допомогу: звільнити потерпілого від тісного одягу, при необхідності тепло вкрити.

9. При ураженні електричним струмом необхідно: вимкнути рубильник або видалити запобіжник, віднести потерпілого від місця ураження і покласти на рівне місце, звільнити від поясу, дати понюхати розчин амоніаку, забезпечити потерпілому повний спокій.

10. Після надання потерпілому першої допомоги його необхідно терміново направити до лікарні.

### ПРАКТИЧНА РОБОТА №1

#### **Тема: ОЦІНКА ТОКСИЧНОСТІ ПРОДУКТІВ МЕТОДОМ БІОТЕСТУВАННЯ**

**Мета:** познайомитися з речовинами, здатними чинити токсичний ефект на організм людини; познайомитися з видами можливої токсичної дії на організм; навчитися досліджувати продукти на токсичність методом біотестування; познайомитися з об'єктами, що використовуються для біотестування.

**Обладнання та реактиви:** *зважені культури Tetrahymena pyriformis;*

вода водопровідна (набрати воду в скляну колбу необхідно не менше чим за 24 години до дослідження, кип'ятити впродовж 1 години на водяній бані, закрити стерильним тампоном і поставити відстоюватися), використати верхній шар; досліджувані продукти; фарфорова ступка і товчачик; флакони пеніцилінів з пробками; предметне і покривне скло; мікроскоп; скляні палички; паперові фільтри; 1 %-вий розчин ацетону; струшувач.

### ☞ *Теоретичні відомості*

Хімічні сполуки, що забруднюють навколишнє середовище і продукти харчування, здатні чинити на організм специфічну дію, що проявляється не в період дії і не відразу після закінчення, а у віддалені періоди життя індивідуумів. Біотестування дозволяє оцінити безпосередній вплив токсикантів на живі організми і дає можливість на кількісній підставі за рахунок отримання конкретних цифрових даних характеризувати рівень токсичності середовища для організмів.

Експерименти на теплокровних тваринах по вивченню віддалених наслідків дії хімічних речовин тривають декілька років і вимагають великих витрат. В якості тест-об'єкта для виявлення токсичних речовин використовуються одноклітинні тварини – інфузорії *Tetrahymena pyriformis* (рис. 1.1).

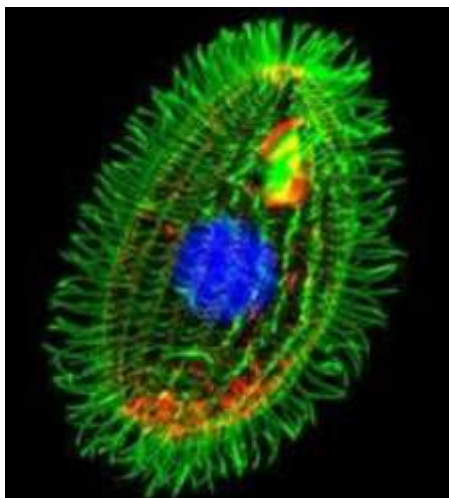


Рисунок 1.1 – *Tetrahymena pyriformis*

На цих організмах розроблена прискорена методика визначення токсичних речовин. Перевага методу біотестування на інфузоріях *Tetrahymena pyriformis* пов'язана з особливостями тест-об'єкта: інфузорії широко розповсюджені у водоймах і беруть активну участь у кругооберті речовин як консументи, проявляють високу чутливість до широкого спектра токсикантів, мають відносно короткий цикл розвитку, поєднують ознаки окремої клітини й цілого організму; схожість із тваринами по кислотно-лужному типу травлення, аналогічних ферментних систем, добре розвинених мітохондрій і характеризуються універсальним кодом нуклеїнових кислот, подібних до коду вищих тварин.

Токсикологічна оцінка за допомогою біотестування на інфузоріях *T. pyriformis* забезпечує ранню діагностику якості води та інших речовин. Отримана в такий спосіб оперативна інформація дозволяє провести подальшу перевірку несприятливої ситуації загальноприйнятими в токсикології методами.

## ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

1. Взяти наважку досліджуваного продукту (5 г), ретельно подрібнити, помістити в конічну колбу і підлити 5 мл 1%-вого розчину ацетону, струшувати впродовж 15 хвилин з відкритою шийкою.

2. Після закінчення часу – фільтрують через складчастий фільтр.

3. В флакон з пеніциліном підлити 3 мл заздалегідь прокип'яченої води і 0,5 мл середовища з культурою *Tetrahymena pyriformis*. Використати цей флакон як контрольний.

4. В другий флакон підлити 3 мл отриманого фільтрату і 0,5 мл суспензії культури інфузорій (дослідний флакон).

5. На покривне скло нанести краплю з флакона з контролем і накрити покривним склом. Розглянути при малому збільшенні. Підрахувати видиму кількість інфузорій і розглянути їх морфофункціональний стан.

6. Таким же чином вчинити з дослідним зразком.

7. Провести облік результатів, проробляючи пункт 4 і 5, через 15, 30 і 45 хвилин.

8. Облік результатів проводиться по морфофункціональних змінах *Tetrahymena pyriformis*: деформація клітин, поведінка (рухливість), загибель клітин і лізис клітин.

**Дослід 1. Постановка проблеми.** Більшість водних об'єктів зазнають різноманітного антропогенного впливу, внаслідок чого виникає кризова екологічна ситуація, яка часто є однією із причин погіршення здоров'я людей і соціальної напруги в окремих регіонах. У зв'язку із цим виникає надзвичайно велика потреба в інформації про токсичність води й джерел забруднення водних об'єктів. Оцінити безпосередній вплив токсикантів на живі організми дозволяє біотестування. Біотестування дає можливість на кількісній підставі за рахунок отримання конкретних цифрових даних характеризувати рівень токсичності середовища для організмів. Результати біотестування представляють інтерес не тільки в екологічному, але й у гігієнічному плані. З одного боку, у гігієнічних дослідженнях біотестування використовується як експрес-метод оцінки токсичності водного середовища. З іншого боку, гідробіонти беруть активну участь у процесі природного самоочищення водойм від забруднення, а токсичний вплив на них хімічних речовин може привести до зниження самоочищувальної здатності водойми та погіршення її санітарного режиму, що є важливим з санітарногігієнічної точки зору.

У зв'язку із цим у завдання досліджень входило створення системи еколого-токсикологічної оцінки водних об'єктів, яка дозволяє охопити поверхневі води та джерела їх токсичного забруднення (стічні води), а також

врахувати шкідливість токсичних поллютантів для гідробіонтів.

**Матеріали та методи досліджень.** Для проведення біотестування проби стічних вод відбиралися після очищення в місцях їх скидання у водойми. Проби поверхневих вод відбирали в контрольних створах, які розташовані вище й нижче місць скиду стічних вод.

При біотестуванні проб стічних вод визначали наявність або відсутність гострої токсичної дії на тест-об'єкти. У токсикологічному аналізі якості поверхневих вод визначали хронічну токсичність.

При біотестуванні стічних і поверхневих вод використовували біотести на інфузоріях *Tetrahymena pyriformis*.

Критерієм токсичності в методиці біотестування на інфузоріях є ймовірне зниження кількості клітин у культурі за 24 години (у гострому експерименті) і 96 годин (у хронічному).

**Результати досліджень.** Перевага методу біотестування на інфузоріях *Tetrahymena pyriformis* пов'язана з особливостями тест-об'єкта: інфузорії широко розповсюджені у водоймах і беруть активну участь у кругооберті речовин як консументи, проявляють високу чутливість до широкого спектра токсикантів, мають відносно короткий цикл розвитку, поєднують ознаки окремої клітини й цілого організму; схожість із тваринами за кислотно-лужним типом травлення, аналогічних ферментних систем, добре розвинених мітохондрій і характеризуються універсальним кодом нуклеїнових кислот, подібних до коду вищих тварин.

З метою встановлення сфери застосування методу біотестування на інфузоріях *T. pyriformis* для визначення токсичності води, а також для відпрацювання методики в умовах біотестування різних вод була проведена його апробація на стічних і природних (поверхневих) водах. Результати дослідження представлені в табл. 1.1.

Таблиця 1.1 – Результати використання методики біотестування на інфузоріях *T. pyriformis*

| Вода       | Кількість проб |           | Для токсичних проб, % | Максимальне розбавлення |
|------------|----------------|-----------|-----------------------|-------------------------|
|            | протестованих  | токсичних |                       |                         |
| Стічна     | 9              | 2         | 22,2                  | 2-4                     |
| Поверхнева | 24             | 18        | 75,0                  | 2-16                    |

Наведені в таблиці дані свідчать про переважне виявлення токсичності біотестом на інфузоріях в пробах поверхневих вод порівняно з пробами стічних вод. Можна припустити, що ступінь очищення стічних вод був недостатньо високим, на що вказує й мінімальне розведення, при якому токсичність не виявилася: 2-4 рази. Можливо, у зв'язку із цим при короткостроковому біотестуванні (24 години) проб стічних вод було виявлено тільки 22,2 % токсичних.

Частота виявлення токсичності в пробах поверхневих вод була на рівні

75,0%, при цьому окремі проби поверхневих вод мали високий рівень токсичності: мінімальне розведення, при якому не проявлялася токсична дія, досягало 16 і 8 разів.

Підсумки біотестування показали можливість застосування методу біотестування на *T. pyriformis* для визначення токсичності поверхневих вод, а також джерел їх забруднення. Короткострокове біотестування може бути використане для виявлення високотоксичних стічних вод, а у випадку невисокого рівня токсичності слід подовжувати час біотестування до 96 годин.

Під системою еколого-токсикологічної оцінки мається на увазі отримання інтегральної якісної і кількісної характеристики властивостей води за критерієм її небезпечності для життєдіяльності водної флори й фауни.

Кількість біотестів у наборі визначається вимогами до еколого-токсикологічної оцінки вод. При еколого-токсикологічній оцінці поверхневих вод для одержання більш повної інформації про рівень екологічного забруднення водних об'єктів і його небезпеки для гідробіонтів необхідно використовувати біотести на інфузоріях.

На рисунках 1.2 та 1.3 представлені морфоструктурні зміни інфузорії *Tetrahymena pyriformis* під дією токсичних речовин.

### **Зробіть висновок.**

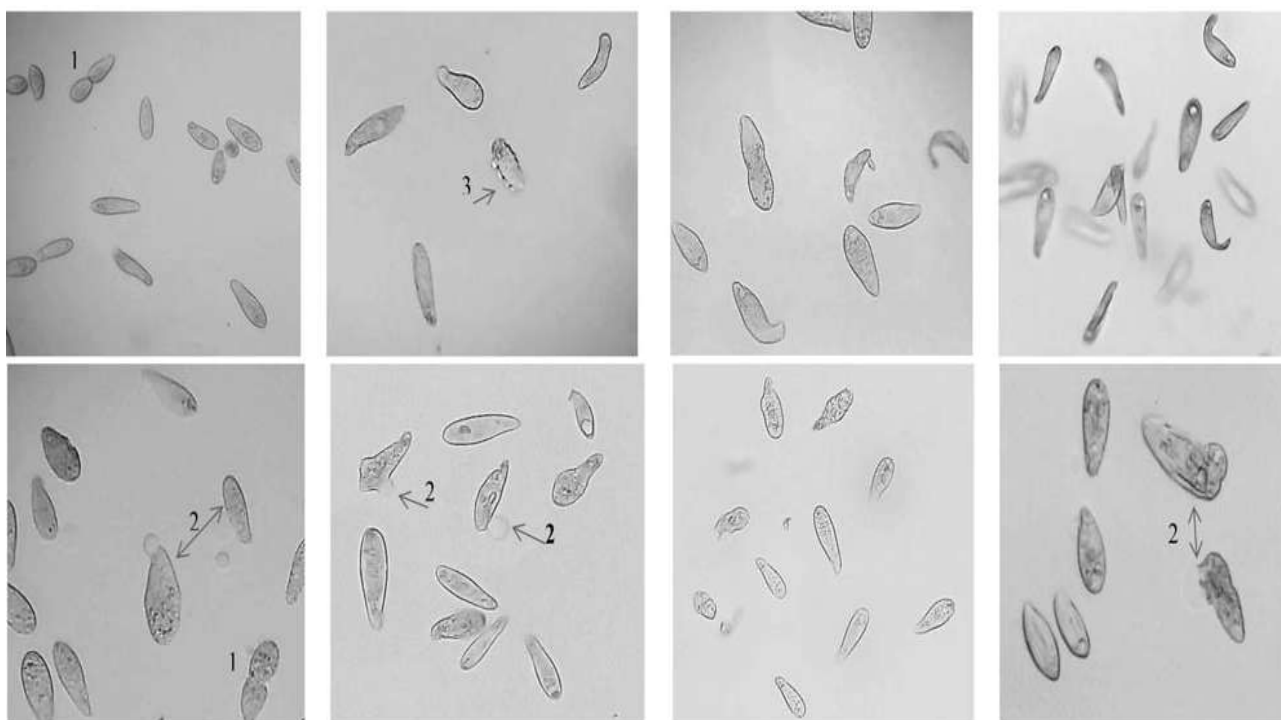


Рисунок 1.2 – Морфоструктурні зміни інфузорії *Tetrahymena pyriformis* під впливом токсичних речовин (1 – клітина на стадії поділу, 2 – виділення ектоплазми, 3 – вакуолізація).

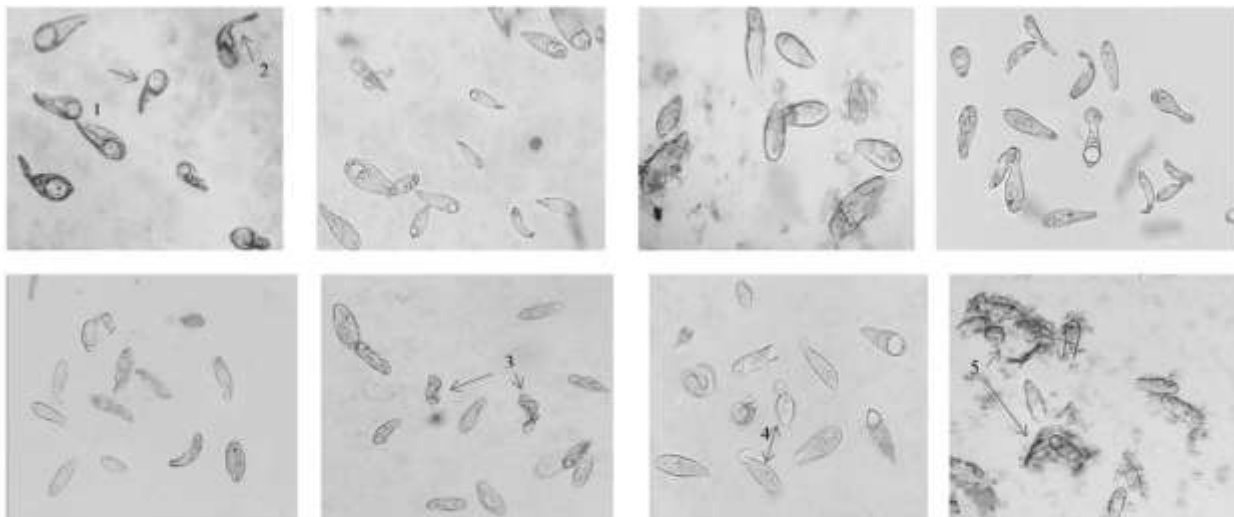


Рисунок 1.3 – Морфоструктурні зміни інфузорії *Tetrahymena pyriformis* під впливом токсичних речовин (1 – збільшена вакуоль, 2 – видовжене тіло у формі хоботка, 3 – пошкоджена мембрана (зневоднена клітина), 4 – цитоплазма і викид вакуолі, 5 – зруйновані клітини).

### ? Контрольні питання:

1. Якітест-організми можна використовувати в методі біотестування?
2. Назвіть переваги та недоліки методу біотестування.
3. Токсичність яких об'єктів можна вивчати за допомогою цього методу?
4. Охарактеризуйте поняття «токсичність», «токсикант», «ксенобіотик».
5. Чим обумовлено вибір *Tetrahymena pyriformis* як об'єкта біотестування?

## ПРАКТИЧНА РОБОТА №2

### Тема: ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НОВИХ СПЛУК НА ПОДІЛ ТА РІСТ РОСЛИННИХ КЛІТИН (ЦИТОТОКСИЧНІСТЬ СПЛУК)

**Мета:** навчитися досліджувати цитотоксичність органічних та неорганічних сполук на кореновому тесті.

**Обладнання та реактиви:** чашки Петрі, розчини досліджуваних сполук, дистильована вода, насіння р. *Cucumis sp.* (огірок), бинт стерильний, хімічні склянки, лінійка.

### ☞ Теоретичні відомості

Рослини – це найбільш зручні індикатори токсичності, тому що вони є первісними ланками трофічних ланцюгів і відіграють головну роль у поглинанні різного роду забруднювальних речовин. Унаслідок цього, за допомогою рослин можна достатньо точно оцінити токсичність різноманітних

хімічних сполук, а також екологічну ситуацію на досліджуваній території.

Сутність ростового тесту полягає в обліку змін показників проростання індикаторної культури, вирощеної на досліджуваних зразках сполук, ґрунту, води, водних витяжок ґрунтів тощо. Цей метод дозволяє оцінити не тільки пригнічуючу дію різних речовин на рослини, але і стимулюючий ефект.

Перевагу віддають тест-культурам, які швидко проростають та є характерними для даного регіону. Наприклад, у регіонах з дерново-підзолистими ґрунтами в якості тест-культури використовують овес і горох; у регіонах зі степовими ґрунтами – пшеницю, люцерну, боби і квасолію. Найбільш розповсюдженими тест-культурами є пшениця, огірок та салат.

Для вивчення цитотоксичної дії з усіх органів рослини найбільш зручним об'єктом є корінь, адже в ньому всі процеси росту та морфогенезу протікають в «найбільш чистому вигляді».

Вивчення впливу сполук різної концентрації на інтенсивність росту насіння зручно досліджувати в кореновому тесті на паростках *p. Cucumis sp.* (наприклад, сорт «Конкурент»).

Схожість насіння – це його здатність давати за певний термін нормальні паростки (в лабораторії) або сходи (в польових умовах). Схожість сильно залежить від умов пророщування і від умов зберігання насіння. Зазвичай схожість виражається у відсотках (відсоток насіння, яке зійшло, від загального числа насіння).

Енергія проростання – здатність насіння до швидкого дружного проростання. Визначається за кількістю паростків, що мають корінці, довжиною не менше довжини насіння, та гіпокотиль, довжиною не менше  $\frac{1}{2}$  довжини насіння.

Гіпокотиль (підсім'ядольне коліно) – ділянка стебла між кореневою шийкою і місцем прикріплення сім'ядолей (рис. 2.1).

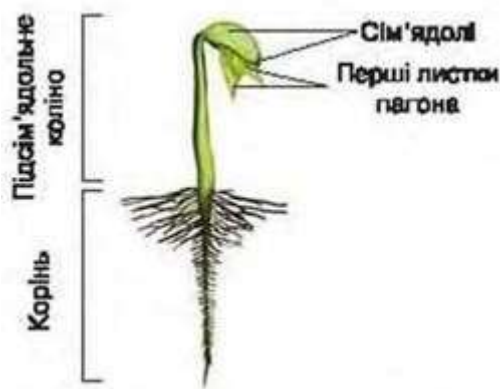


Рисунок 2.1 – Будова молодого проростку квасолі.

Досліджувані сполуки можуть пригнічувати процеси, які визначають швидкість росту паростків не в даний час, а через деякий час після початку впливу. Ці процеси відрізняються за чутливістю до досліджуваних речовин. Ріст клітин, що розтягуються та від яких залежить приріст у перший час після перенесення в розчин, малочутливий. А процеси, що проходять у меристемі (поділ клітин і підготування їх до розтягування), навпаки, дуже чутливі, але їх

пригнічення позначається на рості паростків після певного часу.

## ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

Розчини сполук, що тестують, концентрацією 1%, 5% та 10 % додають по 10 мл у чашки Петрі, в яких знаходиться по 20 насінин огірка на двошаровій підкладці з бинта.

Для кожної концентрації та контрольного експерименту (тільки дистильована вода) використовують по дві чашки.

Чашки з насінням витримують за 30 0С у термостаті протягом 72 годин, після чого вимірюють довжину головного кореня, довжину гіпокотилія, та кількість бічних коренів.

Також через 3 доби визначають схожість насіння та енергію проростання.

Під час досліду за можливістю враховують всі фактори для створення рівних умов для всіх досліджуваних елементів (досліди проводять на одній фазі місяця). Інтенсивність росту насіння у розчинах різної концентрації оцінюють у експерименті порівняно з контролем.

Токсичність визначають за наступною шкалою: 0-20 % пригнічення ростових процесів – відсутність або низький ступінь токсичності; 20,1-40 % середній рівень токсичності; 40,1-60 % токсичність вище середнього рівня; 60,1-80% висока токсичність; 80,1-100% максимальна токсичність.

Існує значна кількість варіантів проведення ростового тесту. Деякі з них розглянуті нижче.

1. Пророщування тест-культур у чашках Петрі При оцінці токсичності проб ґрунтів в чашку Петрі кладуть аркуш фільтрувального паперу, на який насилають 1 грам висушеного та подрібненого ґрунту і рівномірно розподіляють по ємності. Потім додають 5–7 мл води (використовують кип'ячену питну воду, яку попередньо відстоюють кілька днів) і на ґрунт висаджують 30–50 насінин індикаторної рослини (в залежності від крупності). Найбільш зручними культурами для тестування в чашках Петрі є рослини з дрібним насінням – редис, гірчиця, цибуля звичайна (рис. 2.1). Контрольним субстратом у цьому випадку є ґрунт, відібраний на умовно чистій території (заповідник, заказник, курортна зона та ін.). При оцінці токсичності водних зразків (стічних та природних вод, питної води тощо) в чашку Петрі кладуть аркуш фільтрувального паперу, зволожують його 5–7 мл водної проби і висаджують 30–50 насінин. Через кожні шість годин проводять провітрювання чашок шляхом відкривання на декілька хвилин. Дослід триває 72–96 годин. Контрольним субстратом є кип'ячена відстояна питна вода. Після закінчення експерименту рослини обережно виймають з чашок Петрі (при необхідності змивають з них ґрунт) та вимірюють довжину кореневої і стеблової системи паростків, а також сиру масу десяти найбільш типових проростків. Потім рослини поміщують у паперові пакети і висушують протягом декількох днів, після чого визначають їхню суху масу. Дослідження всіх варіантів проводять у трьох повторностях.

Існує значна кількість варіантів проведення ростового тесту. Деякі з них



розглянуті нижче.

1. Пророщування тест-культур у чашках Петрі При оцінці токсичності проб ґрунтів в чашку Петрі кладуть аркуш фільтрувального паперу, на який насилають 1 грам висушеного та подрібненого ґрунту і рівномірно розподіляють по ємності. Потім додають 5–7 мл води (використовують кип'ячену питну воду, яку попередньо відстоюють кілька днів) і на ґрунт висаджують 30–50 насінин індикаторної рослини (в залежності від крупності). Найбільш зручними культурами для тестування в чашках Петрі є рослини з дрібним насінням – редис, гірчиця, цибуля звичайна (рис. 2.2). Контрольним субстратом у цьому випадку є ґрунт, відібраний на умовно чистій території (заповідник, заказник, курортна зона та ін.). При оцінці токсичності водних зразків (стічних та природних вод, питної води тощо) в чашку Петрі кладуть аркуш фільтрувального паперу, зволожують його 5–7 мл водної проби і висаджують 30–50 насінин. Через кожні шість годин проводять провітрювання чашок шляхом відкривання на декілька хвилин. Дослід триває 72–96 годин. Контрольним субстратом є кип'ячена відстояна питна вода. Після закінчення експерименту рослини обережно виймають з чашок Петрі (при необхідності змивають з них ґрунт) та вимірюють довжину кореневої і стеблової системи паростків, а також сиру масу десяти найбільш типових проростків. Потім рослини поміщують у паперові пакети і висушують протягом декількох днів, після чого визначають їхню суху масу. Дослідження всіх варіантів проводять у трьох повторностях.

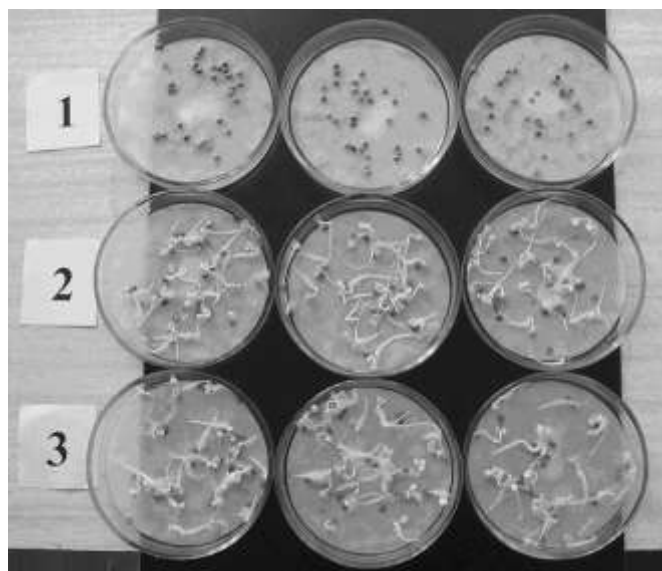


Рисунок 2.2 – Ростовий тест у чашках Петрі на насінні редису

## 2. Пророщування тест-культур на «плаваючих дисках».

При дослідженні токсичності проб води і водних витяжок за цим методом в лабораторні склянки наливають досліджувані проби води чи витяжки в об'ємі 250–500 мл. Насіння індикаторної культури (20-25 насінин) пророщують на спеціальних плаваючих кільцях з пінопласту, обтягнутих марлею. Для цього дослідження найбільш зручною культурою є пшениця (рис. 2.3). На перші кілька діб ємності з досліджуваними зразками накривають склом. Два-три рази

на добу скло знімають на 10–15 хвилин для провітрювання.

На четверту добу ємності з насінням поміщають на полицю, де по можливості протягом 14-ти годин (з 6–00 до 20–00) підтримується постійне освітлення. Витримують рослини в таких умовах ще 2 тижні, фіксуючи наступні показники:

- час появи сходів і їхню кількість (кожну добу);
- довжину надземної частини проростків та їх приріст (кожну добу);
- загальну кількість пророслих насінин (на кінець експерименту).



Рисунок 2.3 – Ростовий тест на «плаваючих дисках» з насінням пшениці.

При цьому звертають увагу на морфологічні особливості рослин (раннє пожовтіння, особливості розвитку кореневої системи та ін.). Дослідження всіх варіантів проводять у трьох повторностях. Контрольним субстратом є кип'ячена відстояна питна вода.

Через 2 тижні молоді рослини обережно звільняють із води та трохи підсушують на фільтрувальному папері. Потім проводять виміри довжини кореневої і стеблової системи (рис. 2.4) та визначають сиру масу десяти найбільш типових проростків. Після цього рослини поміщують у паперові пакети, висушують протягом декількох днів, а потім визначають суху масу.

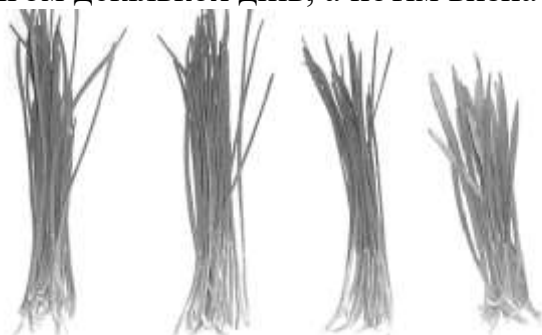


Рисунок 2.4 – Вимірювання довжини надземної частини паростків пшениці (Вимірювання довжини надземної частини паростків пшениці).

### 3. Пророщування тест-культур у ємностях

При дослідженні токсичності проб ґрунту в кожному з посудин вносять 50–100 г субстрату, зволоженого до 70% (використовують кип'ячену відстояну питну воду), і висівають по 15–20 пророслих насінин тест-культури. У даному випадку індикатором може слугувати будь-яка рослина. Для дослідження використовують лабораторний скляний простерилізований посуд, у разі його відсутності – чисті пластикові стакани, чашки та ін.

На перші кілька діб посудини з досліджуваними зразками накривають склом. Два-три рази на добу скло знімають на 10–15 хвилин для провітрювання. На четверту добу ємності з висадженим в них насінням поміщають на полицю, та створюють для них умови, аналогічні вказаним вище (п. 2).

Неодмінною умовою проведення даного експерименту є підтримка постійної вологості досліджуваного ґрунту (на рівні 70% від повної вологоємності ґрунту), яка досягається наступним:

- перед закладкою досліду ґрунт просушують і зважують;
- підготовлений в такий спосіб ґрунт зволожують такою кількістю води, що дозволяє досягти 70%-ї вологості;
- зволожений у такий спосіб ґрунт розносять в експериментальні ємності і визначають загальну вагу.

В ході експерименту зважування періодично повторюють і компенсують утрату вологи шляхом поливу відповідною кількістю води.

Дослідження усіх варіантів проводять в трьох повторностях. Контрольним субстратом у цьому випадку є ґрунт, відібраний в екологічно чистій зоні (заповідник, заказник, курортна зона та ін.).

**Обробка результатів ростового тесту.** Після проведення вимірювань для кожного з досліджуваних варіантів обчислюють середню довжину надземної і кореневої частин  $\bar{X} \pm m$ , де  $m$  - помилка середнього арифметичного, яку визначають так:

$$m = \sqrt{\frac{\sigma^2}{N}} \quad (1.1)$$

де  $N$  – кількість результатів;  $\sigma^2$  – дисперсія, яку визначають за виразом:

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N} \quad (1.2)$$

Достовірність різниці середніх арифметичних  $t$  розраховується за критерієм Ст'юдента-Фішера:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}} \quad (1.3)$$

де  $\bar{x}_1$  – середнє арифметичне значення показника в контрольному досліді;  $\bar{x}_2$  – середнє арифметичне значення показника у досліджуваному варіанті;  $m_1$  – помилка середнього арифметичного в контрольному досліді;  $m_2$  – те ж у досліджуваному варіанті.

Якщо фактично встановлена величина  $t$  більше або дорівнює критичному (стандартному) значенню  $t_{st}$  роблять висновок про існування статистично достовірної різниці між середніми арифметичними у досліджуваному та контрольному варіанті. Якщо ж фактична величина  $t$  менша за  $t_{st}$ , різницю між середніми вважають статистично недостовірною.

Відсутність статистично достовірної різниці між середніми значеннями біопараметра у контрольному та досліджуваному варіанті свідчить про відсутність значних змін ростових процесів у біоіндикаторів, в порівнянні з контрольним варіантом. Тобто ґрунт або вода у досліджуваному варіанті майже такої ж якості, як і в контрольному досліді та не має токсичних властивостей. І навпаки, статистично достовірна різниця між варіантом та контрольним дослідом вказує на те, що досліджуваний зразок (вода, ґрунт) мають фітотоксичні властивості.

Фітотоксичний ефект визначається у відсотках за будь-яким біопараметром: за масою рослини, довжиною кореневої або стеблової системи, кількістю ушкоджених рослин або кількістю сходів тощо. Розраховується фітотоксичний ефект за формулою:

$$\Phi E = \frac{M_0 - M_x}{M_0} \cdot 100, \% \quad (1.4)$$

де  $M_0$  – значення біопараметра (маса рослин, висота паростків, довжина корінців та ін.) у посуді з контрольним субстратом;  $M_x$  – значення аналогічного біопараметра у посуді з досліджуваним субстратом

Приклад розрахунку

При дослідженні токсичності проб річкової води, відібраної на відстані 500, 1000 і 1500 м від місця скиду стічних вод підприємства, були отримані наступні результати (табл. 1). В якості біоіндикатора використовували насіння озимої пшениці, пророщування якої проводилося на «плаваючих дисках». Контрольним субстратом була вода, відібрана на відстані 500 м вище місця скиду стічних вод підприємства.

*Завдання:* – оцінити токсичність зразків річкової води, відібраних на відстані 500, 1000 та 1500 м від місця скиду стічних вод промислового підприємства;

- встановити розмір зони впливу стічних вод підприємства на водний об'єкт;

- обчислити величину фітотоксичного ефекту від дії стічних вод підприємства.

Хід розрахунків

Для кожного досліджуваного варіанта за формулою 1.2 обчислюємо середнє арифметичне висоти рослин і довжини корінців та дисперсію. Висота

рослин у контрольному досліді:

$$\bar{x}_1 = \frac{12,2 + 13,4 + \dots + 13,8}{10} = 12,17 \text{ см}$$

$$\sigma_1^2 = \frac{(12,2 - 12,17)^2 + (13,4 - 12,17)^2 + \dots + (13,8 - 12,17)^2}{10} = 2,31$$

Довжина корінців у контрольному досліді:

$$\bar{x}_2 = \frac{14,0 + 13,7 + \dots + 9,9}{10} = 13,05 \text{ см}$$

$$\sigma_2^2 = \frac{(14,0 - 13,05)^2 + (13,7 - 13,05)^2 + \dots + (9,9 - 13,05)^2}{10} = 2,71$$

Таблиця 2.1 – Результати оцінки токсичності річкової води, відібраної на різних відстанях від місця скиду стічних вод промислового підприємства за «Ростовим тестом».

| Варіант                         |                     |                       |                     |                        |                     |                        |                     |
|---------------------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|------------------------|---------------------|------------------------|---------------------|
| Контроль (500 м до місця скиду) |                     | 500 м від місця скиду |                     | 1000 м від місця скиду |                     | 1500 м від місця скиду |                     |
| Висота рослин, см               | Довжина коренів, см | Висота рослин, см     | Довжина коренів, см | Висота рослин, см      | Довжина коренів, см | Висота рослин, см      | Довжина коренів, см |
| 12,2                            | 14,0                | 9,2                   | 9,9                 | 10,3                   | 8,3                 | 12,3                   | 9,9                 |
| 13,4                            | 13,7                | 8,3                   | 8,7                 | 10,1                   | 8,7                 | 14,6                   | 8,7                 |
| 10,8                            | 12,9                | 7,4                   | 6,3                 | 12,3                   | 7,9                 | 12,9                   | 6,3                 |
| 9,6                             | 14,8                | 7,2                   | 7,5                 | 9,9                    | 8,0                 | 7,2                    | 7,5                 |
| 12,8                            | 13,0                | 7,0                   | 7,9                 | 8,1                    | 9,2                 | 7,0                    | 14,0                |
| 13,2                            | 13,8                | 9,8                   | 8,3                 | 7,9                    | 9,0                 | 9,8                    | 13,7                |
| 14,1                            | 15,2                | 10,3                  | 9,0                 | 7,0                    | 9,3                 | 10,3                   | 12,9                |
| 9,9                             | 12,9                | 8,9                   | 7,7                 | 8,9                    | 8,8                 | 8,9                    | 14,8                |
| 11,9                            | 10,3                | 7,9                   | 7,6                 | 7,9                    | 8,7                 | 7,9                    | 13,0                |
| 13,8                            | 9,9                 | 10,0                  | 9,8                 | 10,0                   | 9,8                 | 10,0                   | 9,8                 |
| Суша маса 10 проростків, мг     |                     |                       |                     |                        |                     |                        |                     |
| 237                             |                     | 160                   |                     | 185                    |                     | 203                    |                     |

Помилку середніх арифметичних для кожного варіанта визначаємо за формулою 1.1:

$$m_1 = \sqrt{\frac{2,31}{10}} = 0,48 \text{ см}$$

$$m_2 = \sqrt{\frac{2,71}{10}} = 0,52 \text{ см}$$

Аналогічні розрахунки виконуємо для інших дослідів

Таким чином, для варіанту 1 (500 м від місця скиду) маємо:

- висота рослин  $8,60 \pm 0,36$  см

- довжина корінців  $8,27 \pm 0,33$ .

Для варіанту 2 (1000 м від місця скиду):

- висота рослин  $8,27 \pm 0,33$  см;

- довжина корінців  $9,24 \pm 0,47$  см.

Для варіанту 3 (1500 м від місця скиду):

- висота рослин  $10,09 \pm 0,76$  см;

- довжина корінців  $11,06 \pm 0,90$  см.

Для визначення наявності чи відсутності токсичних властивостей у досліджуваних зразків, за формулою 1.3 визначимо достовірність отриманих результатів відрізняються від контрольного досліді:

Для варіанту 1 (500 м від місця скиду) маємо:

$$\text{висота рослин} \quad t_1 = \frac{12,17 - 8,6}{\sqrt{0,48^2 + 0,36^2}} = \frac{3,57}{0,6} = 5,95,$$

$$\text{довжина корінців} \quad t_2 = \frac{13,05 - 8,27}{\sqrt{0,52^2 + 0,33^2}} = \frac{4,78}{0,62} = 7,7.$$

Для варіанту 2 (1000 м від місця скиду):

$$\text{висота рослин} \quad t_3 = \frac{12,17 - 9,24}{\sqrt{0,48^2 + 0,47^2}} = \frac{2,93}{0,67} = 4,35,$$

$$\text{довжина корінців} \quad t_4 = \frac{13,05 - 8,77}{\sqrt{0,52^2 + 0,18^2}} = \frac{4,28}{0,55} = 7,78.$$

Для варіанту 3 (1500 м від місця скиду):

$$\text{висота рослин} \quad t_5 = \frac{12,17 - 10,09}{\sqrt{0,48^2 + 0,76^2}} = \frac{2,08}{0,9} = 2,31,$$

$$\text{довжина корінців} \quad t_6 = \frac{13,05 - 11,06}{\sqrt{0,52^2 + 0,90^2}} = \frac{1,99}{1,04} = 1,9.$$

Результати заносять в таблицю 2.1 та роблять висновок.

Таблиця 2.2 – Середні арифметичні висоти рослин та довжини коренів, їх помилки та дисперсія для кожного варіанта

| Варіант                         | Показник            | Дисперсія<br>$\sigma^2$ | Середнє<br>$\bar{x} \pm m$ | t-<br>критерій |
|---------------------------------|---------------------|-------------------------|----------------------------|----------------|
| Контроль (500 м до місця скиду) | Висота рослин, см   | 2,31                    | 12,17±0,48                 | -              |
|                                 | Довжина коренів, см | 2,71                    | 13,05±0,52                 | -              |
| 500 м від місця скиду           | Висота рослин, см   | 1,33                    | 8,60±0,36                  | 5,95           |
|                                 | Довжина коренів, см | 1,11                    | 8,27±0,33                  | 7,7            |
| 1000 м від місця скиду          | Висота рослин, см   | 2,23                    | 9,24±0,47                  | 4,35           |
|                                 | Довжина коренів, см | 0,32                    | 8,77±0,18                  | 7,78           |
| 1500 м від місця скиду          | Висота рослин, см   | 5,74                    | 10,09±0,76                 | 2,31           |
|                                 | Довжина коренів, см | 8,06                    | 11,06±0,90                 | 1,9            |

Значення  $t_1, t_2 > t_{st}(\infty; 0,05)=2,96$ , отже отримані результати достовірно відрізняються від контрольного варіанту. Це свідчить про те, що процеси росту рослин на досліджуваній воді, відібраній на відстані 500 м від місця скиду підприємства, дійсно пригноблені – отже вода має токсичні властивості.

Значення  $t_3, t_4$  також більше 2,96, тобто висота рослин і довжина корінців, вирощених на зразках води з відстані 1000 м від місця скиду, достовірно відрізняються від контрольного варіанту. Це свідчить про те, що ростові процеси пригноблені і вода має токсичні властивості.

Значення  $t_5, t_6 < 2,96$ . Це вказує на те, що результати експерименту у варіанті з річною водою з відстані 1500 м від місця скиду статистично недостовірно відрізняються від контрольного дослідження. Це вказує на те, що токсичність води на відстані 1500 м від підприємства знаходиться на тому ж рівні, що і в контрольному варіанті, тобто вода не має токсичних властивостей і негативний вплив підприємства на річку відсутній.

Таким чином, зона впливу стічних вод підприємства на річку поширюється на відстань до 1000 м від місця скиду стічних вод (рис. 2.5).

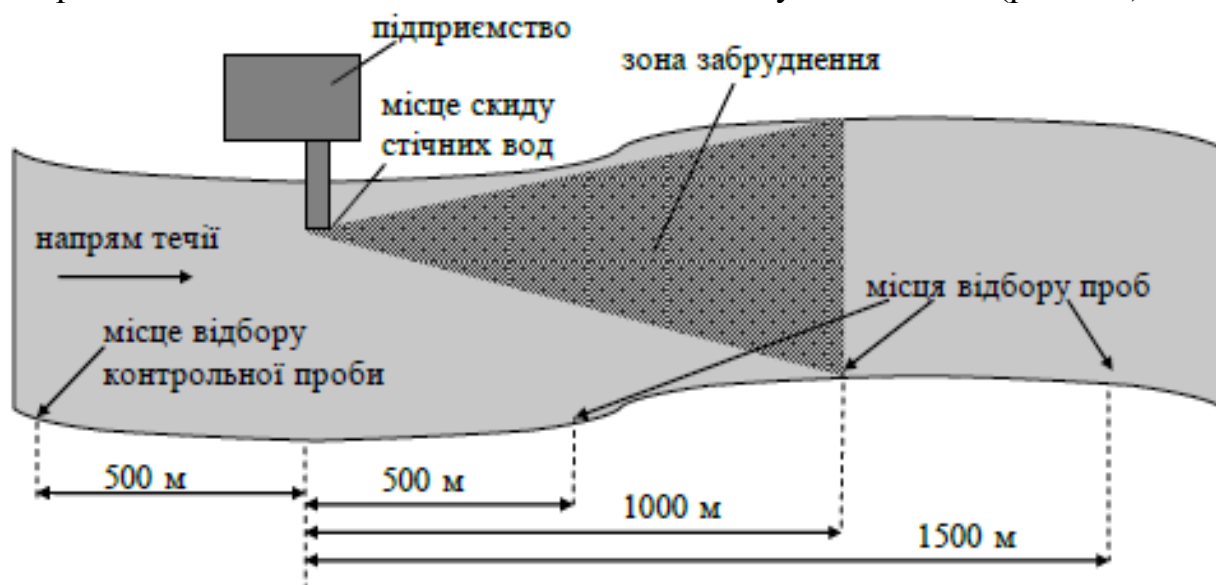


Рис. 5. Зона впливу стічних вод промислового підприємства на річку

Середній фітотоксичний ефект від дії стічних вод підприємства на відстані 500 м від місця скиду становить:

$$\Phi E_{cp}^1 = \frac{29,3+36,6+32,5}{3} = 32,8\%$$

Аналогічним чином підраховуємо величину фітотоксичного ефекту від дії досліджуваних вод на відстанях 1000 м та 1500 м від місця скиду. Результати розрахунків заносимо у табл. 3.

Таблиця 2.3 – Фітотоксичний ефект від дії стічних вод підприємства

| Параметр                         | Значення, % |        |        |
|----------------------------------|-------------|--------|--------|
|                                  | 500 м       | 1000 м | 1500 м |
| $\Phi E_1$ (за висотою рослин)   | 29,3        | 24,1   | 17,1   |
| $\Phi E_2$ (за довжиною коренів) | 36,6        | 32,8   | 15,3   |
| $\Phi E_3$ (за сухою масою)      | 32,5        | 21,9   | 14,4   |
| $\Phi E_{cp}$                    | 32,8        | 26,3   | 15,6   |

Таким чином, на відстані 500 м від місця скиду стічних вод процеси росту рослин за трьома ознаками пригноблені на 32,8% у порівнянні з контролем, на відстані 1000 м – на 26,3% і на відстані 1500 м – на 15,6%.

Висновки. У ході експерименту було встановлено, що:

1. Ростові процеси рослин, пророщених на досліджуваній воді з відстані 500 та 1000 м від місця скиду, пригноблені (показники росту достовірно відрізняються від контролю) – отже, вода має токсичні властивості.

2. Інтенсивність процесів росту рослин, пророщених на досліджуваній воді з відстані 1500 м, достовірно не відрізняється від контролю. Це свідчить про те, що вода не має токсичних властивостей.

4. Зона впливу стічних вод підприємства на річку поширюється на відстань до 1000 м від місця скиду стічних вод.

5. Результати обчислення фітотоксичного ефекту за сухою масою рослин показали, що з віддаленням від місця скиду стічних вод підприємства показники росту рослин поступово покращуються, і фітотоксичність води знижується з 32,8% на відстані 500 м до 15,6% на відстані 1500 м.

#### Контрольне завдання

Оцінити вплив стічних вод промислового підприємства на якість природної води за результатами ростового тесту. Варіанти вихідних даних наведені в додатку 1 і обираються відповідно до порядкового номеру студента в списку академічної групи.

Звіт з практичної роботи повинен бути оформлений за відповідно з наведеним вище прикладом розрахунку.

### Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ЯКОСТІ ҐРУНТУ ЗА ДОПОМОГОЮ НАСІННЯ КРЕС-САЛАТУ

**Мета:** Оцінка стану ґрунтів за допомогою насіння крес-салату.

**Обладнання та реактиви:** чашки Петрі, ґрунт, дистильована вода,



насіння крес-салату, фільтрувальний папір, хімічні склянки, ваги, лінійка

### ☞ *Теоретичні відомості*

*Фітотоксичність* - здатність деяких груп хімічних сполук і продуктів метаболізму мікроорганізмів здійснювати негативний вплив на рослинні організми, що проявляється у порушенні багатьох фізіологічних процесів.

Нераціональне і науково необґрунтоване застосування різних агротехнологій призводить до зміни екологічного стану ґрунтового середовища, що в веде до перебудови мікробного ценозу і викликає розмноження токсинсинтезуючих мікроорганізмів, накопичення токсичних продуктів фенольного ряду, які утворюються в процесі розкладу рослинних решток і накопичення фітотоксичних форм мікроорганізмів.

Фітотоксичні форми є в усіх основних груп ґрунтових мікроорганізмів, але найбільша їх кількість виявлена серед мікроскопічних грибів (*Penicillinae*, *Aspergillus*, *Fusarium*) та бактерій родини *Pseudomonas*, *Bacillus*.

Крім фітотоксинів мікроорганізмів та продуктів розкладу залишків сільськогосподарських культур існують також прижиттєві виділення надземних органів рослин та їх кореневі виділення. Наприклад, при беззмінному вирощуванні конюшини, люцерни, льону метаболізм їх корневих систем призводить до значної «ґрунговтоми» та появи фітотоксичності ґрунту.

Хімічна природа фітотоксичних речовин (колінів), що обумовлюють токсичні властивості ґрунту, дуже різноманітна. Це похідні фенолів, хінонів і нафтизину, поліпептиди й інші сполуки.

Крім того, фітотоксичність ґрунту може обумовлюватись внесенням пестицидів, осіданням важких металів, випаданням кислотних опадів тощо.

Розглядаючи фітотоксичність, або «ґрунговтому» з екологічної точки зору, можна охарактеризувати це явище як кризу і дисгармонію в відношеннях рослин і ґрунтового покриву.

Впровадження біотестування дозволяє істотно скоротити обсяг регулярно виконуваних детальних хімічних аналізів. На відміну від фізичних та хімічних підходів до оцінки забруднення ґрунту, біологічне тестування має прогностичне значення. За станом організмів, їх здатності до розвитку можна прогнозувати зміни, які очікують біоту при даному рівні забруднення середовища проживання (проростання).

Вибір тест-організмів визначається їх поширеністю, простотою утримання й культивування в лабораторії, низькою вартістю, легкістю спостережень за дією забруднювачів на організм і наявністю простих методик таких спостережень. Одночасно, при оцінці субстратів із низьким вмістом токсикантів тест-об'єкт (тест- організм) повинен бути досить чутливим до присутності в середовищі чужорідної хімічної речовини. Крім цього, необхідно визначити правила обробки даних і інтерпретації отриманих результатів.

Крес-салат (*Lepidium sativum*) – однорічна овочева рослина род. Капустяні (*Brassicaceae*), використовується як рання зелень), швидко ростуча, відрізняється гарним сходженням, а також дуже чутлива до забруднення

ґрунтів колінами та важкими металами, а також атмосферного повітря газоподібними викидами автотранспорту.

## ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

Відбір ґрунтових зразків. Для біотестування ґрунтів по місту, у певних пунктах, відбираються об'єднані проби, що складаються з 5 крапкових проб із площі 5 x 5 м, розташованих «конвертом».

Підготовка ґрунтових зразків до біотестування. Крапкові проби відбираються на глибину до 10 см. Свіжі ґрунтові проби зсипаються на поліетиленову плівку, ретельно перемішуються, квартуються 3-4 рази (подрібнений вручну ґрунт розрівнюється на поліетиленовій плівці у вигляді квадрата, розділяється на чотири частини, дві протилежні частини відкидаються, дві частини, що залишилися, перемішуються). Ґрунт, що залишився після квартування, розрівнюється на папері, умовно ділиться на 6 квадратів, із центра яких береться приблизно однакова кількість ґрунту в полотняний мішечок (близько 1 кг). Після квартування свіжий ґрунт використовується для біотестування.

Біотестування ґрунтів на схожість насіння крес-салату. Для біотестування ґрунтів насіння крес-салату пророщують в досліджуваних ґрунтах. Насіння для кожного варіанту закладають у зволожений дистильованою водою свіжий ґрунт у чашки Петрі по 20 насінин у трикратній повторності. Щодня ґрунт у чашках Петрі зволожується однаковою кількістю дистильованої води. Схожість та енергія проростання насіння визначаються по загальноприйнятих методиках (ДСТУ 12039-82 і ДСТУ 2038-84). Енергію проростання крес-салату визначають на 3-й, а схожість на 5-й день. Контролем є насіння, що проросло на ґрунті контрольного пункту.

- *Тестування ґрунтів на проростках крес-салату.* Усереднені проби ґрунтів у трикратній повторності засипають в чашки Петрі до половини, зволожують. На поверхню ґрунту в кожену чашку укладається по 20 насінин крес-салату. Насіння присипається зверху ґрунтом і зволожується. Протягом наступних 10 днів чашки Петрі з досліджуваним субстратом поливають рівною кількістю води. Через 10 днів проростки обережно звільняють від землі, промивають, висушують фільтрувальним папером, після чого проводять зважування, і вимір довжини окремо надземної частини й коріння рослин. Вимірювання довжини надземної частини й коріння тест-рослин проводять за допомогою лінійки з точністю до 1 мм. Контролем є проростки, що виростили на ґрунті контрольного пункту рис. 2.6.

- *Кількісна оцінка дії ґрунтів тестуємих пунктів.*

Схожість визначають шляхом підрахунку кількості проростків у кожній чашці Петрі. Розраховують відсоток схожості за формулою 2.4 та результати заносять в таблицю 3.1:

$$X = K_2 \cdot 100 / K_1 \quad (3.1)$$

де  $K_1$  – кількість насінин, яку посадили;

$K_2$  – кількість насінин, що проросла (проростків).

## Шкала фітотоксичності ґрунтового покриву

| Зона токсичності | $I_{фг}$  | Ступінь токсичності |
|------------------|-----------|---------------------|
| I                | 0.76-1.00 | високотоксичний     |
| II               | 0.51-0.75 | токсичний           |
| III              | 0,26-0,50 | малотоксичний       |
| IV               | 0,00-0,25 | нетоксичний         |

Таблиця 2.4 Результати біотестування ґрунтів по схожості насіння крес-салату. Результати зважування проростків наводять у вигляді таблиці 2.5. 20 насінин посадили у всіх групах

| Пункти відбору проб ґрунту | Схожість, % | Проросло |
|----------------------------|-------------|----------|
| 1                          |             | 19       |
| 2                          |             | 17       |
| 3                          |             | 18       |
| 4                          |             | 19       |
| 5                          |             | 10       |
| 6                          |             | 12       |
| 7                          |             | 6        |
| 8                          |             | 9        |

Таблиця 2.5

Результати біотестування ґрунтів за допомогою крес-салату (довжина та вага підземної й надземної частин)

| Пункти відбору проб ґрунту | Коріння             |                 | Стебла              |                 |
|----------------------------|---------------------|-----------------|---------------------|-----------------|
|                            | Середня довжина, см | Середня вага, г | Середня довжина, см | Середня вага, г |
| 1                          | 15                  | 2,5             | 17                  | 3               |
| 2                          | 11                  | 2               | 15                  | 2,6             |
| 3                          | 10                  | 1               | 11                  | 2               |
| 4                          | 9                   | 1               | 12                  | 2,1             |
| 5                          | 7                   | 1,1             | 14                  | 1,8             |
| 6                          | 12                  | 2,2             | 13                  | 2               |
| 7                          | 5                   | 1               | 13                  | 2,4             |
| 8                          | 4                   | 1               | 11                  | 2               |



| Тест – об'єкт | Грунт (контроль) % | Грунт (забруд 5%) | Чутливість |
|---------------|--------------------|-------------------|------------|
| Крес-салат    | 95                 | 65                | 30         |

Рис. 2.6. – Приклад дії токсичної речовини на крес-салат.

### ? Контрольні питання:

1. Які рослини використовуються у якості індикаторів у ростовому тесті?
2. Які параметри контролюються при проведенні ростового тесту?
3. Що таке схожість та енергія проростання насіння?
4. За якою шкалою оцінюється токсичність в ростовому тесті?
5. Який орган рослин є найбільш зручним для вивчення токсичної дії сполук і чому?
6. Укажіть основні етапи роботи з визначення токсичності ґрунту за допомогою методики біотестування за допомогою крес-салату.
7. На підставі яких даних роблять висновок про токсичність ґрунту?
8. Які хімічні речовини спричиняють токсичність ґрунтів?
9. Які ще рослини-індикатори можуть використовуватися для визначення токсичності ґрунтів?
10. Наведіть класифікацію ґрунтів за ступенем забруднення хімічними речовинами.

## ПРАКТИЧНА РОБОТА №3

### Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ХЛОРВМІСНИХ СПОЛУК В ҐРУНТАХ

**Мета:** навчитися визначати в різних пробах ґрунтів хлорвмісні сполуки, у тому числі хлорорганічні пестициди.

**Обладнання та реактиви:** навчитися визначати в різних пробах ґрунтів хлорвмісні сполуки, у тому числі хлорорганічні пестициди.

### *Теоретичні відомості*

Ґрунти є акумуляторами великої кількості різних забруднювачів, які можуть включатися в процеси колообігу речовин в біосфері і як наслідок чинити токсичний ефект, який становить загрозу як для навколишнього середовища, так і для людини зокрема. Найінтенсивнішого техногенного навантаження зазнає ґрунтовий покрив глибиною до 0,8 м.

Україна є державою, у якій добре розвинутий аграрний сектор виробництва. Розвиток сільськогосподарського виробництва у минулі роки відбувався з використанням великої кількості хімічних засобів захисту рослин. Протягом майже 40 років у світовому сільському господарстві широко використовували персистентні хлорорганічні пестициди (ХОП). Серед них є супертоксиканти, а саме ДДТ і його метаболіти, та ГХЦГ і його ізомери. Встановлено, що хлорорганічні пестициди проявляють мутагенний, тератогенний, ембріотоксичний, гонадотоксичний та канцерогенний ефекти.

Введення хлору в органічну сполуку надає їй біоактивності, яка проявляється в блокуванні важливих біологічних процесів в мікроорганізмах, рослинах і тваринах, зокрема процесів фотосинтезу, клітинного ділення, впливають на дихання рослин і тварин, тому біоактивні хлорвмісні органічні сполуки дотепер масово використовують для виготовлення пестицидних препаратів, які застосовуються для боротьби з особливо небезпечними шкідливими та небажаними мікроорганізмами, рослинами, тваринами, комахами.

За хімічною природою ХОП – це хлорпохідні циклічних вуглеводнів з середньою або високою токсичністю, що мають великі періоди напіврозкладання, а їх стійкість до деградації підвищується із збільшенням атомів хлору. Всі ХОП – відносно нерозчинні у воді, зберігаються у ґрунті та донних відкладеннях, здатні переміщуватись трофічними ланцюгами, максимально впливаючи на хижаків, що є їх кінцевою ланкою, накопичуватись у тканинах безхребетних та хребетних організмів.

Метод ґрунтується на екстракції препарату з досліджуваної проби органічним розчинником (н-гексан). За допомогою якісних реакцій встановлюється наявність хлорорганічних сполук і проводиться їх подальше хроматографування в тонкому шарі алюміній оксиду. Рухливим розчинником служить н-гексан. Плями досліджуваних препаратів проявляються після обприскування пластинок розчином амоніаку і срібла в ацетоні при опроміненні ультрафіолетовим світлом.

Кількісне визначення проводять шляхом візуального порівняння або шляхом виміру площ плям проб і стандартних розчинів.

## **ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА**

Екстракція хлорорганічних сполук з ґрунту.

Для аналізу беруть середню пробу ґрунту у кількості 50-100 г, заздалегідь висушену на повітрі і просіяну через сито діаметром 0,5-1 мм. Наважку ґрунту вносять в склянку з притертим корком і заливають н-гексаном так, щоб шар ґрунту був повністю покритий розчинником.

Ґрунт з розчинником енергійно струшують впродовж 30 хвилин на апараті струшування або вручну, після чого фільтрують через паперовий фільтр у фарфорову чашку діаметром 10 см. Ґрунт промивають 2-3 рази гексаном, збираючи увесь фільтрат в чашку.

2. Якісні реакції на хлорорганічні сполуки:

а) прожарюють мідний дріт в полум'ї пальника, потім занурюють в досліджуваний розчин і знову підносять до полум'я. Якщо полум'я забарвлюється в зелений колір, то це свідчить про наявність хлорвмісних сполук;

б) у пробірку відбирають 2 мл досліджуваного фільтрату і додають 2-3 краплі 1 %-вого розчину аргентум нітрату. Якщо випадає білий осад, то це свідчить про наявність хлорвмісних сполук.

3. Кількісне визначення хлорорганічних сполук.

Фільтрат, що залишився, випарюють на повітрі під витяжною шафою насухо. Далі висушену пробу досліджують для ідентифікації хлорорганічних сполук методом тонкошарової хроматографії. Для цього перед початком аналізу у висушену пробу заливають 0,1-0,5 мл гексану і розчиняють висушений осад, отримуючи робочий розчин.

На хроматографічний папір на відстані 1,5 см від краю за допомогою медичного шприца, капіляру або пастерівської піпетки, наносять досліджувану пробу в одну точку, так щоб діаметр плями не перевищував 1 см.

Осад з чашки з екстрактом 3 рази змивають невеликими (0,2 мл) порціями гексану, які потім наносять на пластинку в центр першої плями. Справа і зліва від проби на відстані 2 см наносять стандартні розчини досліджуваних препаратів, що містять 1 і 10 мкг (0,001 і 0,01 мг) препарату. Пластинку з нанесеними розчинами поміщають в камеру для хроматографування, на дно якої заздалегідь був налитий гексан, за 30 хвилин до початку хроматографування. Край пластинки з нанесеними розчинами може бути занурений в рухливий розчинник не більше, ніж на 0,5 см.

Після того, як фронт розчинника підніметься на 10 см, пластинку виймають з камери і залишають на декілька хвилин для випаровування розчинника. Далі пластинку обприскують проявляючим розчином і впродовж 10-15 хвилин опромінюють УФ-проміннями. Пластинку слід розташовувати на відстані 20 см від джерела світла. За наявності хлорорганічних пестицидів на пластинці проявляються плями сіро-чорного кольору.

Кількісне визначення проводять шляхом порівняння розміру плями проби з розміром плями стандартних розчинів. Розрахунок результатів аналізу роблять за формулою 3.1:

$$X = (A * 1000) / B \quad (3.1)$$

де  $X$  – вміст хлорорганічних пестицидів в аналізованій пробі, мг/кг;

$A$  – кількість пестициду, знайдена шляхом візуального порівняння проби із стандартними розчинами шляхом виміру площі плям, мг;

$B$  – маса наважки, мг.

За наявності хлорорганічних пестицидів на пластинці проявляються плями сіро-чорного кольору.

### **? Контрольні питання:**

1. Наведіть приклади хлорорганічних пестицидів.
  2. Напишіть рівняння якісного визначення хлорорганічних пестицидів з аргентум нітратом.
  3. Охарактеризуйте фізико-хімічні властивості хлорорганічних пестицидів.
  4. Які хлорорганічні пестициди заборонені для використання в Україні?
  5. Назвіть ознаки інтоксикації організму хлорорганічними сполуками.
- Назвіть основні класи пестицидів за хімічною будовою

## **ПРАКТИЧНА РОБОТА №4**

### **Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ОСНОВНИХ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ПРИ ДІЇ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ**

**Мета:** навчитися визначати токсикометричні параметри при дії солей важких металів на проростки насіння.

**Обладнання та реактиви:** чашки Петрі, циліндри, пробірки, солі важких металів, насіння рослин.

### **☞ Теоретичні відомості**

Одним з найважливіших завдань токсикології є визначення токсикологічних параметрів шкідливих речовин, тобто гранично допустимої концентрації (ГДК) та напівлетальної дози (ЛД<sub>50</sub>). Вони необхідні для порівняння зі знайденими в результаті експериментів кількостями (концентраціями) шкідливої речовини та визначення ступеня можливої шкоди, яку завдає токсикант здоров'ю людини та тварин.

Для позначення кількості речовини, що діє на біологічний об'єкт, тобто для вимірювання її токсичності, використовують поняття «доза».

Доза  $D$  ( $D$ ) – це кількість токсиканту, яка надійшла до біологічної системи. Дозу для хімічних токсикантів вимірюють у кількості токсиканту ( $g$ ), яка припадає на одиницю маси ( $kg$ ) біооб'єкту:  $g/kg$  ( $mg/kg$ ).

Летальна доза (lethal dose) – кількість (концентрація) речовини, що призводить до загибелі організму при відсутності лікування.

Абсолютну токсичність речовини визначають середньолетальними (напівлетальними) дозами ( $LD_{50}$ ) та середньолетальними концентраціями ( $LC_{50}$ ).

Середня (напівлетальна) доза ( $LD_{50}$  або  $LD_{50}$ ) – доза, при введенні якої гине 50 % піддослідних.

Абсолютна летальна доза ( $LD_{100}$  або  $LD_{100}$ ) – доза, при введенні якої гине 100 % піддослідних.

## ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

Готують первинний розчин (1 М) солі важкого металу і розчиняють у розрахунковій кількості дистильованої води. Методом послідовних розведень дистильованою водою готують розчини з концентраціями 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 і такдалі, щоб охопити чималий діапазон концентрацій досліджуваного токсиканту.

6. Приготовані розчини, а також як контроль – дистильована вода, наливають у чашки Петрі по 5 мл, потім туди ж розміщують вирізані округлі форми фільтрувального паперу. Відлічують насіння рослини з коротким часом проростання і розміщують у кількості 25 або 50 насінин у кожній чашці Петрі.

Готують по три проби кожного варіанту досліду.

Чашки Петрі закривають кришками і розміщують у темному місці. При висиханні до них додаються порції дистильованої води за первинним об'ємом. Через 7-8 діб роблять підрахунок пророслого насіння, вимірюють довжину корінців, вагу рослин. Отримані результати записують у зошит і, на їх підставі, будують графік.

На рисунку 4.1 зображено криву впливу поживного середовища з токсикантом на проростання насіння. Як видно, при збільшенні вмісту токсиканту в поживному середовищі, зменшується величина проростання насіння.

На рисунку також зображено принцип визначення токсикометричних характеристик: за величину ГДК приймається точка, в якій перетинаються: лінія, що паралельна осі абсцис, і лінія нахилу кривої (при екстраполяції до перетину з віссю ординат);  $LC_{50}$  визначається як концентрація, за якої спостерігається половинне проростання насіння.





Рисунок 4.1–Крива впливу середовища з токсикантом на проростання насіння

Завдання оцінити отримані результати впливу солей важких металів (кадмію хлориду) на проростки кукурудзи.

### Хід роботи

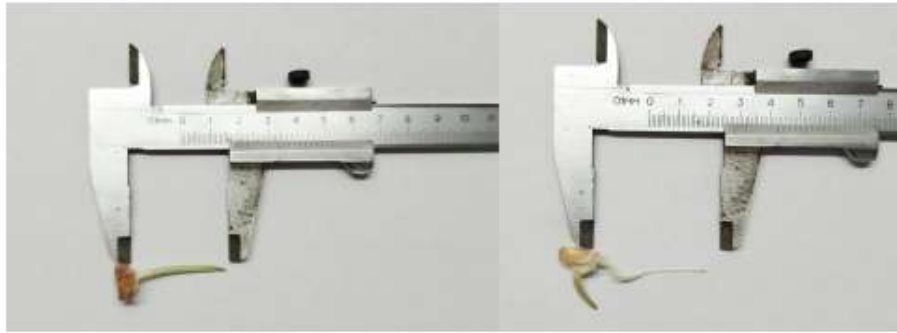
1. Проростити насіння кукурудзи (не менше 20 насінин).



2. Приготувати розчини хлориду кадмію у концентраціях: 1,25 мкмоль/л; 2,5 мкмоль/л та 5 мкмоль/л.



3. Виміряти (за допомогою штангенциркулю) довжину корінців та довжину стеблін проростків перед посадкою у розчини солі кадмію.



| Середня довжина корінців, мм | Середня довжина стебла, мм |
|------------------------------|----------------------------|
| 3,84                         | 3,21                       |

4. Посадити дослідні проростки у склянки із відповідними розчинами, контрольні проростки залишити рости у звичайній воді (мінімум по 5 шт).



5. Через тиждень повторити вимірювання.



6. Заповнити таблицю.

| Варіант дослідю         | Довжина корінців,мм | Довжина стебла,мм |
|-------------------------|---------------------|-------------------|
| Контроль                | 16,7                | 11,3              |
| Дослід 1- 1,25 мкмоль/л | 13,1                | 8,0               |
| Дослід 2- 2,5 мкмоль/л  | 9,8                 | 6,4               |
| Дослід 3- 5 мкмоль/л    | 6,4                 | 3,2               |

Самостійно виконайте розрахунки заповнюючи дану таблицю. Зробіть висновки.

| Пункти відбору проб ґрунту | Коріння             |  | Стебла              |  |
|----------------------------|---------------------|--|---------------------|--|
|                            | Середня довжина, см |  | Середня довжина, см |  |
| 1                          | 19                  |  | 19                  |  |
| 2                          | 12                  |  | 16                  |  |
| 3                          | 12                  |  | 12                  |  |
| 4                          | 17                  |  | 11                  |  |
| 5                          | 10                  |  | 13                  |  |
| 6                          | 13                  |  | 15                  |  |
| 7                          | 9                   |  | 11                  |  |
| 8                          | 14                  |  | 10                  |  |

### ? Контрольні питання:

1. Що таке ГДК токсиканту в об'єкті навколишнього середовища?
2. Охарактеризуйте залежність «доза – ефект».
3. Охарактеризуйте залежність «доза – ефект» за показником летальності.
4. Розкрийте поняття «середня ефективна доза» і «летальна доза».
5. Що являє собою явище синергізму при дії важких металів?
6. Що являє собою явище антагонізму при дії важких металів?
7. Які ви знаєте закономірності залежності між структурою органічних сполук та їхньою токсичністю?
8. У чому полягає сутність правила Ричардсона?

## ПРАКТИЧНА РОБОТА №5

**Тема: НЕЙТРАЛІЗАЦІЯ ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ ЗА ДОПОМОГОЮ КОМПЛЕКСОНУ ТРИЛОН Б**

**Мета:** ознайомитися з методами антидотної терапії, навчитися проводити нейтралізацію важких металів розчином Трилону Б.

**Обладнання та реактиви:** чашки Петрі, циліндри, пробірки, 0,5 М розчин солі важкого металу, 0,1 М розчин Трилону Б, насіння рослин.

### Теоретичні відомості

Одним із методів подолання токсичної дії шкідливої речовини є

зв'язування токсиканту антидотом, тому його негативна дія слабшає.

Антидоти (протиотрути)—хімічні речовини, які застосовуються для лікування отруєнь тваринними, рослинними отрутами та отрутами хімічного походження. Нині антидоти розроблено лише для обмеженої груп токсикантів. Зазвичай виділяють такі механізми антагоністичних відносин двох хімічних речовин: хімічний; біохімічний; фізіологічний; заснований на модифікації процесів метаболізму ксенобіотика. Антидоти з хімічним антагонізмом безпосередньо пов'язуються із токсикантами. При цьому здійснюється нейтралізація вільно циркулюючої отрути. Біохімічні антагоністи витісняють токсикант з його зв'язку з біомолекулами-мішенями та відновлюють нормальний перебіг біохімічних процесів в організмі. Фізіологічні антидоти, як правило, нормалізують проведення нервових імпульсів у синапсах, що зазнали атакитоксикантів. Модифікатори метаболізму перешкоджають перетворенню ксенобіотика на високотоксичні метаболіти або прискорюють біодетоксикацію речовини.

Іони важких металів зв'язуються з поверхнею клітин кореня рослини і проникають усередину клітин, оскільки останні можуть поглинати позитивно заряджені іони. Такі комплекси, як динатрієва сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти (ЕДТА) або Трилон Б здатні утворювати міцні комплекси з катіонами, і тим самим знижувати їхню концентрацію у вільному стані. Тобто, Трилон Б належить до антидотів з хімічним механізмом дії. Так як ці комплекси мають значно більші розміри, ніж самі катіони, вони не здатні проникнути всередину клітин, а отже, негативна дія іонів важких металів сильно зменшується.

## ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

Із первинного розчину солі важкого металу методом послідовних розведень у п'ять разів готують розчини з концентраціями 0,1М; 0,002М; 0,004 М; 0,0008 М; 0,00016 М; 0,000032 М та води в якості контролю.

По 8 мл цих розчинів додають в чашки Петрі, що містять по 25-50 насінин обраної рослини. Одночасно в ці чашки Петрі додають розчин Трилону Б до концентрації 10 мМ. Чашки Петрі встановлюють в темне місце, і через 7 днів проводять підрахунок пророслого насіння.

Роблять висновок про нейтралізуючу дію Трилону Б залежно від концентрації солі важкого металу. Оцініть та введіть розрахунки в таблицю 5.1.

Таблиця 5.1 Результати проростання насіння на середовищі з солями важких металів та Трилоном Б

| Концентрація розчину | Трилон Б | Кількість пророслого насіння, шт. до/після | Схожість, % |
|----------------------|----------|--|-------------|
| 0,1                  | 10       | 1/16                                       |             |
| 0,002                | 10       | 9/18                                       |             |
| 0,004                | 10       | 12/17                                      |             |

|          |    |       |  |
|----------|----|-------|--|
| 0,0008   | 10 | 16/18 |  |
| 0,00016  | 10 | 17/20 |  |
| 0,000032 | 10 | 19/21 |  |
| Вода     | 10 | 24    |  |

### ? Контрольні питання:

1. Які ви знаєте класифікації антидотів?
2. Назвіть 3-5 антидотів, що містять сульфгідрильну групу та поясніть механізм їх дії.
3. Які антидоти застосовуються при отруєнні блідою поганкою?
4. Які антидоти застосовуються при отруєнні метанолом та ціанідами?
5. Назвіть антидоти, що застосовуються при отруєнні серцевими глікозидами.

## Тема: НЕЙТРАЛІЗАЦІЯ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ ФЕНОЛУ БУРШТИНОВОЮ КИСЛОТОЮ

**Мета:** ознайомитися з фармакологічними ефектами застосування бурштинової кислоти, навчитися визначати захисний вплив бурштинової кислоти в залежності від концентрації фенолу.

**Обладнання та реактиви:** чашки Петрі, циліндри, пробірки, розчин фенолу з концентрацією 5%, розчин бурштинової кислоти з концентрацією 0,5%, насіння рослин.

### ☞ Теоретичні відомості

Одним із методів подолання токсичної дії шкідливої речовини є мобілізація внутрішніх резервів організму для того, щоб компенсувати негативну дію токсиканту. Проростання насіння – дуже відповідальний етап у розвитку рослин. У цей момент починається зростання паростку з дуже нечисленних клітин зародка, причому початкові можливості рослини невеликі. Тому будь-яка несприятлива дія може виявитися летальною через нестачу, наприклад, енергетичних ресурсів у рослини, оскільки ще не розвинені шляхи подачі поживних речовин із ендосперму. Додавання бурштинової кислоти, одного з основних субстратів дихання, дозволяє швидко отримати енергію клітинами внаслідок активації мітохондріального дихання. Тому проростки більшою мірою здатні протистояти токсичній дії фенолу.

Бурштинова кислота (бутандіова кислота, етан-1,2-дикарбонова кислота) (рис. 5.1) є універсальним джерелом енергії в організмі людини та тварин.

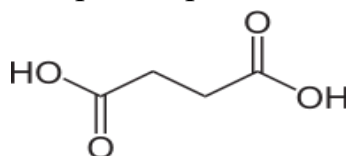


Рисунок 5.1.–Хімічна структура бурштинової кислоти

Будучи природною біогенною речовиною, яка постійно утворюється в організмі, ця кислота окиснюється в цитратному циклі з виділенням великої кількості енергії, що запасається у формі АТФ. Бурштинова кислота – продукт п'ятої і субстрат шостої реакції циклу трикарбонових кислот. Її окиснення в шостій реакції циклу Кребса здійснюється за допомогою сукцинатдегідрогенази. Остання локалізується на внутрішній поверхні мембран мітохондрій, і активність її не залежить від концентрації окисненої та відновленої форми НАД(Ф)Н<sub>2</sub>. Це дозволяє зберегти енергосинтезуючу функцію мітохондрій в умовах гіпоксії при порушенні НАД-залежного дихання клітин.

Виконуючи каталітичну функцію стосовно циклу Кребса, бурштинова кислота знижує в крові концентрацію інших інтермедіатів даного циклу – лактату, пірувату та цитрату, які накопичуються в клітині на ранніх стадіях гіпоксії. Феномен швидкого окиснення бурштинової кислоти сукцинатдегідрогеназою, що супроводжується АТФ-залежним відновленням пулу піримідинових динуклеотидів, отримав назву «монопозитивна дихальна ланцюга». Біологічне значення його полягає у швидкому ресинтезі АТФ. У нервовій тканині функціонує так званий гама-амінобутиратний шунт (цикл Робертса), під час якого бурштинова кислота утворюється з  $\gamma$ -аміномасляної кислоти через проміжну стадію бурштинового альдегіду. В умовах стресу та гіпоксії утворення бурштинової кислоти можливе також у реакції окисного дезамінування  $\alpha$ -кетоглутарової кислоти в печінці. Екзогенне введення лише одного сукцинату є достатнім для поповнення пулу всіх органічних кислот циклу Кребса.

## ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

З початкового розчину фенолу методом послідовних розведень у п'ять разів готують розчини з концентраціями 0,1 %, 0,02 %, 0,004 %, 0,0008 %, 0,00016 %, 0,000032 % та воду як контроль. 8 мл цих розчинів додають чашки Петрі, що містять по 25-50 насінин обраної рослини. Одночасно в ці чашки Петрі додається розчин бурштинової кислоти до концентрації 0,005 мг/мл. Чашки Петрів становлюють в темне місце, і через 7 днів проводять підрахунок пророслого насіння.

Результати розрахуйте та занесіть у таблицю 5.2.

Таблиця 5.2 Результати проростання насіння на середовищі з фенолом та бурштиновою кислотою

| Концентрація розчину | Кількість пророслого насіння, шт.<br>до/після | Схожість, % |
|----------------------|---|-------------|
| 0,1                  | 2/23  |             |
| 0,02                 | 9/26  |             |
| 0,004                | 13/24   |             |
| 0,0008               | 17/25   |             |

|          |       |  |
|----------|-------|--|
| 0,00016  | 19/24 |  |
| 0,000032 | 22/26 |  |
| Вода     | 29    |  |

На підставі отриманих результатів складається графік залежності проростання насіння від концентрації фенолу, та дія на нього бурштинової кислоти.

### **? Контрольні питання:**

1. Поясніть механізм дії бурштинової кислоти при дії токсичних речовин.
2. Розкрийте функцію біологічно активного трипептиду–глутатіону.
3. Напишіть формулу бурштинової кислоти та фенолу, і назвіть їх за різними номенклатурами.
4. Опишіть біологічну дію фенолу на організм людини.
5. Які ви знаєте лікарські засоби, до складу яких входить бурштинова кислота?

### **Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ СПОЛУК**

**Мета:** навчитися визначати гостру токсичність хімічних сполук.

**Обладнання та реактиви:** піддослідні тварини (миші), твін-80, досліджувані сполуки, ступка з товкачиком, шприці інсулінові, торсіонні ваги, дистильована вода, шпатель.

### ***☞ Теоретичні відомості***

Вивчення гострої та хронічної токсичності нових сполук є обов'язковим етапом дослідження при створенні лікарських засобів, що дозволяє оцінити небезпечність речовин для здоров'я за умов короткотривалої дії та визначити клас токсичності й широту терапевтичної дії. Вивчення токсичності за одноразового введення (гостра токсичність) дає можливість отримати інформацію щодо взаємозв'язку між дозою та системною та/або локальною токсичністю. Такі дані також можуть бути використані при визначенні доз при проведенні досліджень токсичності при повторних уведеннях.

Відомо, що реакція організму на чужорідні речовини залежить від їх хімічної структури, отже гостра токсичність будь-яких сполук пов'язана з присутністю в їх молекулах тих чи інших функціональних груп.

Гостру токсичність найчастіше визначають за допомогою табличного експрес-методу визначення середніх ефективних мір впливу на біологічні об'єкти за Прозоровським В.Б., в основі якого – пропозиція використовувати досліджувані сполуки в дозах, котрі розміщені по логарифмічній шкалі з інтервалом 0,1, а всі можливі вірогідні результати LD<sub>50</sub> та їхні похибки були

попередньо розраховані за програмою пробіт-аналізу.

За результатами визначення гострої токсичності речовини відносять до одного з 6 класів токсичності за К.К. Сидоровим залежно від шляху введення (табл. 5.3).

Таблиця 5.3. Класифікація токсичності сполук за К.К.Сидоровим

| Клас токсичності | Ступінь токсичності   | Середня летальна доза (мг/кг) при введенні |                   |
|------------------|-----------------------|--|-------------------|
|                  |                       | підшкіру                                   | внутрішньочеревно |
| 1                | Надзвичайно токсичні  | ≤0,3                                       | ≤0,2              |
| 2                | високо токсичні       | 0,4-15,0                                   | 0,3-10,0          |
| 3                | Помірно токсичні      | 16-150                                     | 11-100            |
| 4                | мало токсичні         | 151-1500                                   | 101-1000          |
| 5                | Практично не токсичні | 1501-4500                                  | 1001-3000         |
| 6                | Відносно не шкідливі  | >4500                                      | >3000             |

## ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

Вивчення гострої токсичності проводять на білих інтактних дорослих двостатевих мишах вагою 20±3,0 г.

Для визначення середньої летальної дози (LD<sub>50</sub>) використовують 4 групи тварин по 2 спостереження в кожній. Кількість речовини, що водиться, розраховують за формулою 5.1:

$$m(\text{сполуки}) = \frac{M_{тв} \times D_x}{1000}$$

Де  $M_{тв}$  – вага дослідної тварини, г;  $D_x$  – доза, яка вводиться тварині, мг/кг.

Речовини вводять тваринам внутрішньочеревно з дотриманням правил асептики та антисептики у вигляді водної суспензії (у випадку нерозчинних сполук стабілізованої твіном-80). Контрольній групі тварин вводять фізіологічний розчин у тому ж обсязі, що й основній групі. Спостереження за тваринами проводять протягом 2-х тижнів після одноразового введення сполук, що вивчаються. Протягом всього часу звертають увагу на поведінкові реакції, нервову та м'язову збудженість, стан шкіри і слизових оболонок. Також спостерігають за зміною маси тіла, характером виділення та продовження життя.

Результати розрахуйте та занесіть у таблицю 5.4:



Таблиця 5.4 Результати дослідження гострої токсичності нових сполук

| Формула сполуки | Доза | Номер тварини | Вага тварин, г | Стать тварин | V речовини, мл | Час введення | Час загибелі |
|-----------------|------|---------------|----------------|--------------|----------------|--------------|--------------|
| пеніцилін       | 2    |               | 200            |              |                |              |              |
| аналгін         | 1    |               | 300            |              |                |              |              |
| етанол          | 3    |               | 150            |              |                |              |              |
| цефтріаксон     | 4    |               | 400            |              |                |              |              |
| тетрациклін     | 5    |               | 300            |              |                |              |              |
| дротаверін      | 3    |               | 250            |              |                |              |              |

### ? Контрольні питання:

1. Розкрийте сутність понять «токсичність» та «токсичний ефект».
2. Розкрийте особливості формування залежності «доза–ефект».
3. Наведіть класифікацію токсикантів за співвідношенням між концентрацією і часом впливу на організм.
4. Як визначаються експериментальні параметри токсикометрії?
5. Визначте поняття середньо смертельних доз та концентрацій.

## ПРАКТИЧНА РОБОТА №6

### Тема: ВПЛИВ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА АКТИВНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ ҐРУНТУ

**Мета:** навчитися визначати вплив солей важких металів на активність мікроорганізмів ґрунту.

**Обладнання та реактиви:** чашки Петрі, циліндри, пробірки, розчин солі важкого металу із концентрацією 0,5 М, фільтрувальний папір, ножиці, зразки ґрунту.

### Теоретичні відомості

Забруднення ґрунтів важкими металами як один із наслідків негативного антропогенного впливу на довкілля є дуже поширеним явищем. Джерелами надходження металів у ґрунт можуть бути аерогенні викиди та відходи промислових підприємств, транспорту. На сільськогосподарські угіддя важкі метали потрапляють аерогенним шляхом, а також внаслідок тривалого застосування для зрошення забруднених стічних вод або мінеральних, органічних добрив і пестицидів, які містять як домішки важкі метали.

Одне з найважливіших місць у ґрунтових екосистемах займають

мікроорганізми. Вони є останнім ступенем у більшості харчових ланцюгів. Наявність важких металів у середовищі спричиняє структурну перебудову в мікробних ценозах ґрунтів. У них поступово витісняються чутливі види і залишаються лише групи видів або окремі види, стійкі до високих концентрацій тих чи інших металів. До того ж, потрапивши з ґрунту до рослин, іони важких металів по трофічних ланцюгах доходять до людини, становлячи загрозу її здоров'ю.

Усі метали в окисненій формі можуть взаємодіяти з мікробною клітиною. У високих концентраціях (1% і більше) важкі метали діють як загальнопротоплазматичні отрути, викликаючи денатурацію білків і нуклеїнових кислот. У сублетальних концентраціях їх дія може бути більш специфічною, оскільки різні метали є спорідненими до різних активних груп молекул клітин. Найчутливішими до дії важких металів є процеси клітинного поділу, транспорт цукрів і катіонів металів, синтез рибофлавіну, проникність клітин.

Механізм токсичного впливу важких металів залежить від природи сполуки і від досліджуваного організму. Певні елементи (наприклад, купрум) зв'язуються в основному з клітинною поверхнею і викликають ушкодження. Інші елементи (наприклад, ртуть) проникають усередину клітин, де зв'язуються з певними функціональними групами, зокрема з SH-групами, інактивуючи таким чином молекули ферментів, або відкладаються у металічній формі. Існують також додаткові механізми токсичного впливу важких металів, які зумовлені тим, що метали можуть відігравати роль антиметаболітів, утворювати хелати з важливими метаболітами або каталізувати розпад метаболітів, у результаті чого вони стають недоступними для клітини. Метали можуть заміщувати структурно або електрохімічно важливі елементи, що призводить до порушення ферментативної або клітинної функції.

Реакція ґрунтової мікробіоти на антропогенні забруднювачі виражається у зміні її кількісного та якісного складу. Такі організми, як плісняві гриби, використовують в якості харчового субстрату органічні речовини рослинних і тваринних залишків, мінералізуючи їх, роблячи доступним для рослин різні елементи. Важкі метали можуть сильно інгібувати їхню активність.

## ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

З первинного розчину солі важкого металу методом послідовних розведень у п'ять разів готують розчини з концентраціями 0,1 М; 0,02 М; 0,004 М; 0,0008 М; 0,00016 М; 0,000032 М та води в якості контролю. 8 мл цих розчинів додаються в чашки Петрі, що містять шар ґрунту товщиною 0,5 см. Поверх ґрунту накладають кружальце з фільтрувального паперу. Чашки Петрі встановлюють у темне місце, і регулярно змочують поверхню паперу, щоб уникнути висихання. Експеримент триває доти, поки в контрольному варіанті жовта пліснява грибів роду *Aspergillus* або темно-зелена роду *Trichoderma* не займуть більшу частину паперового кружка. Тоді кружальця паперу виймають, обережно звільняючи від грудочок ґрунту.

Плісняві гриби в ході своєї життєдіяльності виділяють різні забарвлені речовини, що поглинаються папером, і за розміром забарвлення можна зробити висновки про активність пліснявих грибів. Зображення плям переносять на кальку і визначають їхню площу. З отриманих результатів складають графік залежності активності мікроорганізмів від концентрації важких металів у ґрунті.

### **? Контрольні питання:**

1. Наведіть класифікацію важких металів за ступенем важливості для організму.
2. Наведіть класифікацію важких металів за дією на організм людини.
3. Яка перша допомога при отруєнні важкими металами?
4. Назвіть основні симптоми при гострому отруєнні парами ртуті.
5. З якими функціональними групами зв'язуються іони ртуті в клітинах?

### **Тема: ВПЛИВ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ГЛІКОЛІТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ДРІЖДЖІВ**

**Мета:** навчитися визначати гліколітичну активність дріжджів під впливом солей важких металів різної концентрації.

**Обладнання та реактиви:** стаканчики, циліндри, пробірки, парафін, розчин солі важкого металу із концентрацією 0,5 М, препарат дріжджів.

### **☞ Теоретичні відомості**

Вибір дріжджів як об'єкту для вивчення різних типів стресу, зокрема впливу різноманітних токсичних речовин зумовлений тим, що ця модель має перед іншими ряд суттєвих переваг. Зокрема, дріжджі є одночасно клітинною та організменною еукаріотичною модельною системою, яка дає можливість здійснювати та порівнювати дослідження *in vitro* та *in vivo*. Дріжджі мають високу інтенсивність метаболізму, швидкість росту та старіння. Існують тісні гомологічні зв'язки між дріжджами та вищими еукаріотами. Крім того, особливості росту і старіння дріжджів легко визначаються та контролюються зовнішніми чинниками. Таким чином, дріжджі і до тепер є однією з найзручніших модельних систем.

Катаболізм глюкози у процесі зброджування її до етанолу та  $\text{CO}_2$  здійснюється гліколітичним шляхом. Глюкоза окиснюється до пірувату. Перетворення пірувату на етанол проходить у два етапи (рис. 6.1):

- 1) Піруват декарбоксилюється піруватдекарбоксилазою до ацетальдегіду;
- 2) ацетальдегід відновлюється алкогольдегідрогеназою до етанолу за участю НАДН. При цьому переноситься водень, який утворився під час дегідрування триозофосфату. Окисно-відновний баланс, таким чином, зберігається.



Рисунок 6.1—Утворення етанолу дріжджами(спиртове бродіння)

Зброджування дріжджами глюкози – процес анаеробний, хоча дріжджі є аеробними мікроорганізмами. В анаеробних умовах бродіння відбувається дуже інтенсивно, але відзначається слабкий ріст.

Дріжджі використовують органічні сполуки як для отримання енергії, так і як джерело карбону. Їм необхідний кисень для дихання, проте за його відсутності багато видів здатні отримувати енергію за рахунок анаеробного дихання (бродіння) з виділенням спиртів. Основним джерелом карбону для пекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* є глюкоза, яка забезпечує клітину енергією. Проте, фруктоза, теж може бути джерелом карбону та енергії. Таким чином, глюкоза та фруктоза – це взаємозамінні моносахариди, що використовуються як карбонмісні джерела в середовищі культивування дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

Таким чином, хлібопекарські дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* є поширеним, популярним та зручним об'єктом для досліджень. Головна особливість пекарських дріжджів у тому, що за структурою вони подібні до клітин ссавців, а багато білків є гомологічними до людських. На пекарських дріжджах можна оцінювати гостру токсичність сполук за ступенем інгібування клітин. Встановлена кореляція між інгібуванням росту дріжджів та гострою токсичністю у тварин.

## ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

Попередньо калібрують та вибирають пробірки з однаковим діаметром. З початкового розчину солі важкого металу методом послідовних розведень вп'ятеро готують розчини з концентраціями 0,1 М; 0,002 М; 0,004 М; 0,0008 М; 0,00016М; 0,000032М та води в якості контролю. Ці розчини кількості 3мл наливають у пробірки, стаканчики. Сухі хлібопекарські дріжджі розпускають у воді, додають цукор із розрахунку 5 г/100 мл і додають у пробірки із солями.

Парафін розплавляють і обережно наливають у пробірки з дріжджами та солями. Коли парафін застигає, він утворює щільну пробку. Під пробкою

утворюється анаеробне середовище. У цих умовах дріжджі зброджують цукор, утворюючи етанол та карбон (IV) оксид. Об'єм карбон (IV) оксиду, що виділився, пропорційний активності гліколізу. Через заздалегідь визначений за контролем час, вимірюють величину підйому пробки, яка пропорційна об'єму карбон (IV) оксиду, що виділився. Результати оформлюють як графік залежності підйому парафінової пробки від концентрації солі важкого металу.

### **? Контрольні питання:**

1. У яких виробництвах харчової хімії використовують дріжджі?
2. Дайте визначення поняття «гліколіз».
3. Чому дріжджі є зручним об'єктом для використання в токсикології?
4. Опишіть методику вивчення впливу солей важких металів на гліколітичну активність дріжджів.
5. Напишіть структурні формули глюкози та фруктози.

## **Тема: ЯКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ГЕМОЛІТИЧНОЇ ОТРУТИ (СОЛАНІНУ) В КАРТОПЛІ**

**Мета:** ознайомитися з особливостями накопичення та вмістом алкалоїду соланіну в рослинах; навчитися якісно визначати соланін у бульбах картоплі різних сортів та за різних умов зберігання.

**Обладнання та реактиви:** розчини  $H_2SO_4$  (конц.) та ацетатної кислоти (80-90 %),  $H_2O_2$  (5 %-вий); чашки Петрі скляні, скальпель, піпетки, скляні стаканчики, фільтрувальний папір, бульби картоплі різного сорту та одного сорту, що має різні умови зберігання.

### **☞ Теоретичні відомості**

Серед отруєнь рослинними продуктами друге місце займають отруєння рослинами. Більшість отруйних речовин рослинного походження відносяться до алкалоїдів. Алкалоїди є органічними основами: у рослинах містяться у вигляді солей винної, яблучної, мурашиної, щавлевої, оцтової та інших кислот. Кількість алкалоїдів та їхній склад неоднакові не тільки в різних видах рослин, а й у різних частинах тих самих рослин. Найбільше їх у плодах, листі та корінні рослин. В одній і тій самій рослині, як правило, міститься кілька різних алкалоїдів. Крім того, вміст алкалоїдів залежить від пори року та природних умов місцевості (складу ґрунту, вологості, клімату). Найбагатші на алкалоїди рослини родини макових, метеликових, жовтецевих, пасльонових.

Алкалоїди мають високу фізіологічну активність, їхня дія на організм людини дуже складна й багатогранна. Спільними для отруєнь рослинами є короткий інкубаційний період та ураження майже всіх систем організму.

Інколи, під час порушення умов зберігання деякі овочі здатні накопичувати отруйні речовини і ставати повністю, або частково отруйними. Відомі випадки отруєння пророслою (зеленою) картоплею. У картоплі за умов

неправильного зберігання або за умов потрапляння прямих сонячних променів, накопичується значна кількість отруйної речовини – соланіну (рис. 6.2).



Рисунок 6.2–Картопля,щомаєпідвищенийвмістсоланіну

Соланін ( $C_{45}H_{73}NO_{15}$ ) є глікоалкалоїдом (рис. 6.3). Він є гемолітичною отрутою. Назва отрути походить від лат.*Solanum*, що в перекладі означає «пасльон». Цю отруйну речовину виявили в рослинах у 1820 р. Вважають, що як і інші алкалоїди, соланін необхідний для захисту молодих пагонів рослини від комах, бактеріальних хвороб та травоядних тварин.

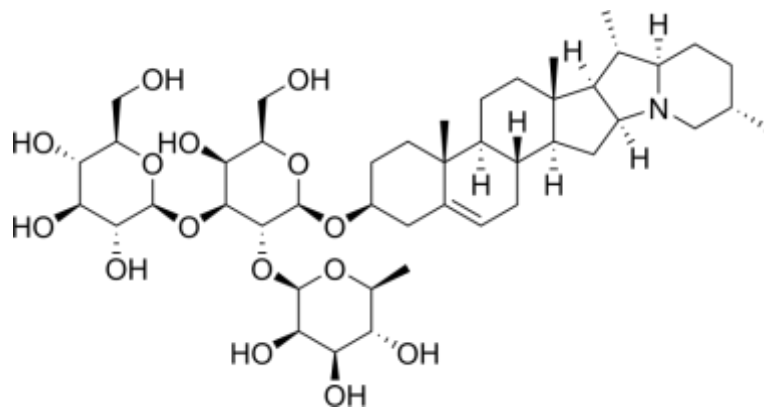


Рисунок 6.3–Молекулярна формула соланіну

В природних умовах соланін можна знайти в організмі всіх представників родини пасльонових, зокрема в картоплі, помідорах, перці, баклажанах та ін. Але найбільша кількість соланіну споживається людьми з картоплею.

В картоплі утворюється соланін та споріднений йому глікоалкалоїд чаконін. Листя та стебла картоплі зазвичай містять досить великі концентрації цих речовин. Соланін міститься в бульбах картоплі в кількості від 2 до 10 мг/‰.

Але в недозрілих (зелених), або в старих пророслих бульбах вміст соланіну досягає значно більшої кількості – до 100 мг/‰. Особливо значна концентрація соланіну спостерігається в проростках картоплі (до 500 мг/‰). Коли бульби картоплі піддаються дії світла, вони набувають зеленого кольору та підвищують вироблення глікоалкалоїдів, в тому числі соланіну. Це є природньою захисною реакцією рослини, що допомагає захистити оголені від ґрунту бульби від поїдання. Зелений колір виникає завдяки появі хлорофілу, що сам

по собі нешкідливий, але це позеленіння є індикатором збільшення концентрації соланіну, який накопичується, в основному, в шкірці. Деякі інфекційні хвороби, такі як фітофтора, призводять до різкого підвищення концентрації соланіну в бульбах картоплі, що є природним захистом від збудника захворювання. Сорти картоплі, що використовуються в сільському господарстві, перевіряються на вміст соланіну, і в більшості з них концентрація соланіну нижча за 0,2 мг/г.

Уміст соланіну в баклажанах варіює залежно від ступеня стиглості й агрокліматичних умов вирощування. Так, у баклажанах технічного ступеня стиглості міститься від 0,004 до 0,009% соланіну, біологічного ступеня стиглості – 0,087% соланіну на суху речовину.

Прийом в їжу продуктів з підвищеним вмістом соланіну здатний привести до розвитку сильної інтоксикації. Доза 200-400 мг здатна призвести до розвитку симптомів отруєння. Людина після вживання зеленої або пророслої картоплі з вічками може відчувати гіркий присмак у роті, печію язика, подразнення глотки. Пізніше з'являється нудота, блювота, діарея. Ознаки отруєння проходять через 1-2 доби. Соланін чинить пригнічувальну дію на нервову систему, порушує роботу органів травлення, руйнує клітини крові. При виведенні з організму несприятливо діє на нирки і шкірні покриви. У майбутньому можливий розвиток хвороби печінки та нирок.

Дотримання певних правил дозволить запобігти надходженню в організм отруйних алкалоїдів. Заборонено використовувати в їжу позеленілу картоплю та картоплю з паростками, не можна споживати незрілі помідори і баклажани. Смаження картоплі при 150–170°C руйнує практично весь наявний соланін, але приготування в мікрохвильовій пічці знижує концентрацію соланіну тільки на 25–35%, а звичайне варіння практично його не руйнує. Проблему зниження вмісту соланіну в баклажанах можна вирішити шляхом порушення цілісності клітинних структур плодів: механічного (подрібнення, пресування), температурного (нагрівання, заморожування), електрофізичного, хімічного, біологічного. Їх сутність полягає у порушенні клітинних оболонок та гідролізі протопектину до пектину. При цьому мікропори оболонок збільшуються до таких розмірів, які забезпечують вільне витікання клітинного соку із клітин у міжклітинний простір.

У країнах Євросоюзу і США картоплю продають тільки в полотняних мішках, що захищають від сонячного світла.

## **ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА**

Для якісного виявлення вмісту соланіну в плодах картоплі використовують кольорову реакцію В.Н. Нілової.

1. З бульби картоплі роблять кілька зрізів товщиною до 1мм зрізних 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 (на рівну поверхню) зрізами догори та краплями наносять реактиви в такій послідовності: концентрована ацетатна кислота (80-90%), потім концентрована сульфатна кислота, і нарешті, кілька крапель 5 %-вого розчину гідроген пероксиду. Майже миттєво в місцях зрізів, що містять соланін, з'являється інтенсивне темно-малинове або червоне забарвлення (рис. 6.4).



Рисунок 6.4–Ознаки кольорової реакції на соланін у плодах картоплі

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

### **? Контрольні питання:**

1. Охарактеризуйте природні алкалоїди та їх значення для здоров'я людини.
2. Що називають гемолітичними отрутами? Наведіть приклади природних гемолітичних отрут.
3. Назвіть токсикологічні характеристики та значення соланіну.
4. Охарактеризуйте умови утворення соланіну в овочевих рослинах. У яких овочах поширений соланін та яким чином можна зменшити його вміст?
5. Опишіть кольорову та органолептичну проби виявлення соланіну в картоплі.

## **Тема: ВИЗНАЧЕННЯ НІТРИТІВ У КОВБАСАХ ТА М'ЯСОПРОДУКТАХ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ**

**Мета:** навчитися визначати нітрити у ковбасах та м'ясопродуктах.

**Обладнання та реактиви:** зразок продукту, хімічні склянки на 100 мл, мірні колби (1000 мл, 50 мл),  $\text{NaNO}_2$ , розчин реактиву Грісса, насичений розчин  $\text{ZnSO}_4$ , 0,1 М розчин  $\text{KOH}$  або  $\text{NaOH}$ , водяна баня, хлороформ, термометр лабораторний, ваги лабораторні, фотоелектроколориметр.



## ☞ Теоретичні відомості

Натрій нітрит ( $\text{NaNO}_2$ ) використовують при виробництві варених ковбас та інших м'ясопродуктів в якості консерванту – речовини, що подовжує термін зберігання продуктів, захищаючи їх від псування, викликаного мікроорганізмами (бактерії, цвілеві гриби, дріжджі, серед яких можуть бути патогенні і непатогенні види). Також він виконує роль фіксатору кольору, оскільки у природному середовищі свіже м'ясо через кілька годин набуває сірого забарвлення, що відбувається завдяки реакції з повітрям. Щоб уникнути неапетитно сірого відтінку в м'ясних і ковбасних продуктах, харчова промисловість широко використовує добавку натрій нітрит ( $\text{E250}$ ).

Небезпека використання натрій нітриту полягає в тому, що в певних умовах при термічній обробці або в організмі людини він може вступати в реакцію з амінами, що містяться в дуже малих кількостях у продуктах харчування та організмі людини. У результаті такої реакції в організмі можуть утворюватися N-нітрозаміни – сильні канцерогени.

Нітрит натрію достатньо токсична речовина.  $\text{LD}_{50}$  для щурів становить 180 мг/кг, для людини  $\text{LD}_{50}$  – 71 мг/кг. Тобто смертельна доза для людини становить від 2 до 6 г, залежно від будови організму. Неправильне використання харчової добавки E 250 при виробництві продуктів харчування з м'яса або риби може призвести до серйозних отруєнь, тому натрій нітрит використовують у суміші з харчовою сіллю.

Нітрити добре всмоктуються організмом із шлунково-кишкового тракту. Вони призводять до зниження тону мускулатури, розширенню судин і зниженню тиску.

Крім використання в якості харчової добавки натрій нітрит отримав застосування в медицині як судинорозширювальний засіб та антидот при отруєнні ціанідами.

Для кількісного визначення нітритів у сировині та готових виробів харчової промисловості використовують фотометричний метод, який ґрунтується на кількісній реакції між нітрит-йонами та сульфосаліциловою кислотою з утворенням червоно-фіолкової діазосполуки при взаємодії з  $\alpha$ -нафтиламином (рис. 6.5).

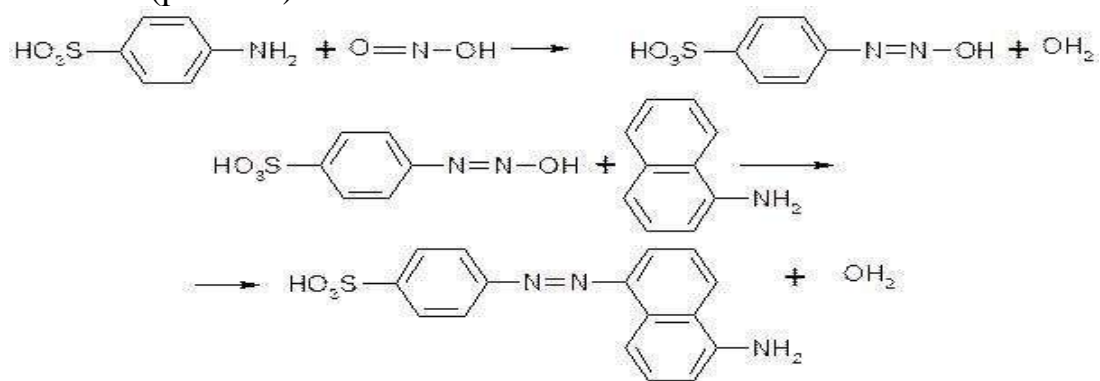


Рисунок 6.5–Реакція між нітрит-йонами та сульфосаліциловою кислотою

Чутливість методу—до 0,003мг/л нітритів. При вмісті нітритів понад 0,003мг/л пробу розбавляють водою.

## ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

### 1. Приготування основного стандартного розчину нітриту.

1,5 г  $\text{NaNO}_2$  переносять в мірну колбу місткістю 1000 мл, розчиняють в невеликій кількості дистильованої води, доводять до мітки водою і перемішують вміст. В 1 мл такого розчину міститься 1 мг нітритів. Додають до розчину 1 мл хлороформу та зберігають у посудині з темного скла протягом кількох місяців.

### 2. Приготування основного стандартного розчину нітриту.

1 мл основного розчину  $\text{NaNO}_2$  переносять в мірну колбу місткістю 1000 мл, доводять до мітки дистильованою водою і перемішують вміст. В 1 мл такого розчину міститься 0,001 мг нітритів.

### 3. Підготовка пробим'ясопродукту.

У хімічній склянці зважують близько 5 г подрібненого м'ясопродукту з похибкою не більшою 0,001 г, наливають 30-40 мл дистильованої води, підігрітої до 60 °С, перемішують протягом 10 хв. Суміш відстоюють протягом часу, достатнього для утворення над розчином водної витяжки м'ясопродукту.

### 4. Осадження білків.

Водну витяжку переносять у колбу на 50 мл, доводять об'єм до мітки, змиваючи залишки наважки. Перемішують.

У хімічну склянку піпеткою відміряють 20 мл підготовленої витяжки, додають 10 мл 0,1 М розчину калій або натрій гідроксиду та 40 мл насиченого розчину цинк сульфату, перемішують. Нагрівають склянку з розчином на водяній бані за температури 100 °С протягом 7-8 хв. Охолоджують розчин, фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 4 мл реактиву Грісса та доводять до мітки. Перемішують, отримують підготовлену пробу.

### 5. Підготовка градуювальник розчинів.

Градуювальні розчини готують,вносячи в колби на 50мл 0; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 15,0 мл стандартного робочого розчину з вмістом нітритів 0,001мг/мл, доливають дистильованою водою приблизно до 40 мл, додають до кожної колби по 2 мл реактиву Грісса, доводять до мітки, перемішують. Одержують розчини з вмістом нітритів 0; 0,01; 0,02; 0,04; 0,10; 0,20; 0,30 мг/мл.

### 6. Вимірювання. Побудова градуювального графіка.

Мірні колби з пробою та з градуювальними розчинами поміщають на водяну баню, витримують 10 хв при 60 °С. Перемішують, охолоджують, фотометрують за довжини хвилі 520 нм відносно розчину порівняння (без вмісту нітритів).

Результати вимірювань записують у таблицю 13.1. Будують градуювальний графік. Визначають концентрацію нітритів в досліджуваному розчині.

Таблиця 6.1 Результати визначення вмісту нітритів у ковбасних виробих

та м'ясопродуктах

| Продукт | Оптична густина | Концентрація NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/мл |
|---------|-----------------|---|
|         |                 |   |

Масову частку нітритів розраховують за формулою 6.1:

$$\omega = \frac{10C}{m}$$

де m – наважка м'ясопродукту, г; C – вміст нітратів в мг (розраховується за калібрувальним графіком). Результати отримують в мг на 100 г м'ясопродукту. Розрахуйте дані показники та внесіть у таблицю.

| Продукт | Оптична густина | Концентрація NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/мл |
|---------|-----------------|---|
|         | 0,9             | 0,5   |
|         | 1,4             | 1   |
|         | 0,9             | 0,1   |
|         | 0,5             | 0,00002   |
|         | 0,9             | 0,5   |
|         | 1,1             | 0,7   |
|         | 0,7             | 0,0001  |
|         | 1,4             | 1   |
|         | 1,0             | 0,6   |
|         | 0,7             | 0,0001  |

### ? Контрольні питання:

1. Які основні джерела надходження нітритів в організм людини?
2. У чому полягає токсичний вплив нітритів на організм людини?
3. Охарактеризуйте метод визначення нітритів в м'ясопродуктах.
4. Які ви знаєте якісні реакції на нітрит-іони?
5. Опишіть застосування натрій нітриту в харчовій промисловості.

### ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Петруша Ю.Ю. Основи токсикології : лабораторний практикум для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія». Запоріжжя : Запорізький національний університет, 2023. 48 с.
2. Юсіна Г. Л. Токсикологічна хімія : методичні рекомендації до лабораторних робіт для студентів спеціальності «Хімія». Краматорськ : ДДМА, 2020. 30 с.

3. Журавель І. О., Бондар В. С., Мерзлікін С. І., Степаненко В. І. Токсикологічна хімія з клінічною токсикологією : методичні рекомендації до лабораторних занять. Харків : Вид-во НФаУ, 2015. 66 с.
4. Григор'єва Л. І., Томілін Ю. А. Екологічна токсикологія та екотоксикологічний контроль : навчальний посібник. Миколаїв : Вид-во ЧДУ імені Петра Могили, 2015. 240 с.
5. Ящук Л. Б., Загоруйко Н. В. Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Основи екологічної токсикології» для здобувачів освітнього ступеня магістр спеціальності 101«Екологія». Черкаси : ЧДТУ, 2019. 34 с.
6. Галькевич І. Й., Кучер М. М., Бідниченко Ю. І., Федущак Н. К., Крамаренко С. Ю., Костишин Л. П. Методичні рекомендації до лабораторних занять з токсикологічної хімії (Частина 2) для студентів V курсу фармацевтичного факультету (спеціальність «Фармація»). Львів : Львів. нац. мед. ун-т ім. Д. Галицького, 2015. 101 с.
7. Ткачук О. П., Шкатула Ю. М., Тітаренко О. М. Сільськогосподарська екологія : навчальний посібник. Вінниця : ВНАУ, 2020. 542 с.
8. Лисиця А. В. Біоіндикація і біотестування забруднених територій : методичні рекомендації до практичних робіт. Рівне : Дока-центр, 2018. 77 с.
9. Іванків М. Я. Особливості міграції та акумуляції хлорорганічних пестицидів у системі «грунт-рослина» в умовах західного лісостепу України : дис. ... канд. сільськогосп. наук : 03.00.16. Львів, 2016. 177 с.
10. Оліфіренко В. В., Рачковський А. В., Козичар М. В. Використання біотестів на інфузоріях *Tetrahymena pyriformis* для еколого-токсикологічної оцінки водних об'єктів. *Таврійський науковий вісник*. 2013. № 84. С. 246-248.
11. Тригуб В. І., Домусчи С. В. Біотестування як метод дослідження токсичності ґрунтів. *Вісник ОНУ. Сер.: Географічні та геологічні науки*. 2020. Т. 25, вип. 2 (37). С. 112-127.
12. Єфремова О. О. Визначення якості ґрунту за допомогою насіння крес- салату. URL: <https://de.khnu.km.ua/labview.aspx?a=274&b=2> (дата звернення: 07.07.2022).
13. Кушкевич І., Гнатуш С., Гудзь С. Вплив важких металів на клітини мікроорганізмів. *Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна*. 2007. Вип. 45. С. 3-28.
14. Прозоровский В. Б. Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты. *Токсикологический вестник*. 1998. № 1. С. 28–32.

## РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

### Основна:

1. Ніженковська І. В., Вельчинська О. В., Кучер М. М. Токсикологічна хімія. Київ : ВСВ «Медицина», 2020. 372 с.

2. Шевряков М. В. Основи токсикологічної хімії : навчальний посібник для студентів закладів вищої освіти хімічних, фармацевтичних, біологічних, екологічних спеціальностей. Херсон : ОЛДІ-ПЛЮС, 2020. 224 с.
3. Козловська Т. Ф., Никифорова О. О. Загальна токсикологія : теоретичні аспекти : навчальний посібник. Кременчук : КрНУ, 2016. 150 с.
4. Баюрка С. В., Бондар В. С., Мерзлікін С. І. Аналітична токсикологія : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2017. 384 с.
5. Хоботова Е. Б., Уханьова М. І., Крайнюков О. М. Основи екологічної токсикології : навчальний посібник. Харків : видавництво ХНАДУ, 2012. 276 с.

#### **Додаткова:**

1. Кочін І. В., Черняков Г. О., Бурлай В. З. Сильнодіючі отруйні речовини : джерела, небезпека, захист. Запоріжжя, 2002. 176 с.
2. Снітинський В. В., Хірівський П. Р., Гнатів П. С., Антоняк Г.Л., Панас Н. Є., Петровська М. А. Екотоксикологія : навчальний посібник. Херсон : Олді-Плюс, 2011. 330 с.
3. Садлер Т. В. Ксенобіотики, гомеостаз і хімічна безпека людини. Київ : Здоров'я, 2001. 550 с.
4. Трахтенберг И. М. Книга о ядах и отравлениях. Киев : Наукова думка, 2000. 366 с.
5. Biruh Alemu, Ato Mistire Wolde Toxicology : Lecture notes for medical laboratory science students. EthiopiaHawassa University, 2007. 125 p.
6. Wallig M., Bolon B., Haschek W., Rousseaux C. Fundamentals of Toxicologic Pathology. Academic Press, 2017. 902 с.
7. Klaassen C. Casarett & Doull's Toxicology. McGraw-Hill Education, 2018. 1648 p.
8. Svarc-Gajiae J. General Toxicology. Nova Science Publishers, 2010. 287 p.
9. Циганенко О. І., Матасар І. Т., Торбін В. Ф. Основи загальної, екологічної та харчової токсикології : посібник. Київ : Чорнобильінформ, 1998. 173 с.
10. Бондар В. С., Карпушина С. А., Погосян О. Г. Токсикологічна хімія в схемах і таблицях : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. Харків : Вид-во НФаУ : Золоті сторінки, 2005. 128 с.
11. Скалецький Ю. М., Мисула І. Р. Військова токсикологія, радіологія та медичний захист : підручник. Тернопіль : Укрмедкнига, 2003. 362 с.
12. Григор'єва А. О., Хору́жа І. А. Властивості і токсичність хімічних сполук : навчальний посібник. Луганськ : вид-во СНУ ім. В. Даля, 2011. 160 с.
13. Панасенко О. І., Каплаушенко А. Г., Самура Б. А. Загальна характеристика токсичних речовин, діагностика і лікування за гострих отруєнь. Запоріжжя : Карат, 2011. 432 с.
14. Кириленко Т. Е., Кривда Г. Ф., Осминкина Л. Н. Конспект лекцій по токсикологической химии. Одеса : Астропринт, 2007. 272 с.
15. Вельчинська О. В., Ніженковська І. В. Токсикологічна хімія. Отруйні речовини і їх біотрансформація. Київ : АДЕФ-Україна, 2015. 320 с.
16. Методичні вказівки для практичних занять студентів по дисципліні «Основи екологічної токсикології». URL: [files.khadi.kharkov.ua/](http://files.khadi.kharkov.ua/)

17. Шумейко В. М., Овруцький В. М., Глуховський І. В. Екологічна токсикологія: предмет, поняття, джерела виникнення. URL: [http://www.medved.kiev.ua/arhiv\\_mg/stat\\_98/98\\_1\\_15.htm](http://www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/stat_98/98_1_15.htm)

## **ІНФОРМАЦІЙНІ РЕСУРСИ**

1. Навчальні матеріали з загальної токсикології. URL: [https://pidruchniki.com/1854051650870/bzhd/otruiennya\\_himichnimi\\_rechovinami](https://pidruchniki.com/1854051650870/bzhd/otruiennya_himichnimi_rechovinami)
2. Науковий журнал «Фармакологія та лікарська токсикологія». URL: <https://pharmtox-j.org.ua/index.php/pharmtox-j>
3. ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». URL: <https://www.ift.org.ua/>
4. «Український журнал сучасних проблем токсикології». URL: <http://protox.medved.kiev.ua/index.php/ua/journal>

## ДОДАТКИ

### Актхіміко-токсикологічного дослідження

Акт хіміко-токсикологічного дослідження має відображати такі моменти дослідження:

1. Введення. Вказується коли, ким і що досліджувалося.

2. Попередній огляд доставленого матеріалу. Детально описуються об'єкти досліджень: тара, упаковка, написи, печатки, стан їх та характер вмісту. Далі описуються попередні випробування та біологічні дослідження. Описується зовнішній вигляд об'єкту; характер об'єкту (склад і властивості речовини—рідина, порошок, аморфна речовина); запах (бензойний альдегід і синильна кислота мають запах гіркої мигдалю); властивості біологічного матеріалу—при наявності ознак гниття запах амоніаку і сірководню буде маскувати запах отрути (візуально перевіряють наявність кристалів, насіння рослин); наявність кольору – вміст шлунку синьо-зеленого кольору припускає наявність солей купруму; жовтого – солей хрому, нітратної кислоти. Проводиться встановлення наявності консервантів, оскільки в деяких випадках біологічний матеріал консервується речовинами, які можуть мати певний вплив на хід та результати аналізу.

Проводиться визначення рН-середовища:

- рН2,0—наявність мінеральних і органічних кислот;
- рН4-6—слабкі органічні кислоти і солі важких металів;
- рН8—амоніак, луги, солі лужних металів і вугільної кислоти.

3. Хімічне дослідження. Докладно викладаються усі операції. Опис має бути яким і точним, даючи повну картину проведеного дослідження.

4. Висновок. Наприкінці пишуть: «На підставі вищеприписаного слід зробити висновок, що в досліджуваних об'єктах (слід їх перерахувати) не знайдено» та перераховують речовини, на які проводилося дослідження з негативними результатами. Далі перераховують речовини знайдені при дослідженні, та наводять кількості їх (або на весь доставлений об'єкт, або отримані речовини виражають у %).

Таблиця 1. Порівняльна токсичність деяких речовин для білих мишей (доза, що викликає загибель при внутрішньочеревному способі введення)

| Речовина      | Джерело     | Токсичність(ЛД <sub>50</sub> ),<br>мкг/кг |
|---------------|-------------|---|
| Ботулотоксин  | Бактерії    | 0,0003                                    |
| Тетанотоксин  | Бактерії    | 0,001                                     |
| Батрахотоксин | Земноводні  | 2   |
| Тайпоксин     | Змії        | 2   |
| Рицин         | Рослини     | 3   |
| Тетродотоксин | Риби        | 8   |
| Сакситоксин   | Найпростіші | 9   |
| Латротоксин   | Павуки      | 10  |
| Бунгаротоксин | Змії        | 14  |
| Діоксин       | Синтетичний | 200                                       |
| Курарин       | Рослини     | 500                                       |
| ДФФ           | Синтетичний | 1000                                      |
| Іприт         | Синтетичний | 8600                                      |
| Натрійціанід  | Синтетичний | 10000                                     |
| Талій сульфат | Сіль        | 35000                                     |
| Атропін       | Рослини     | 90000                                     |
| Метанол       | Синтетичний | 1000000                                   |



Навчальне видання  
(українською мовою)  
Амінов Руслан Флузович

ОСНОВИ ТОКСИКОЛОГІЇ  
Методичні рекомендації до практичних занять  
для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра  
спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія»

Рецензент *О.А. Брашко*  
Відповідальний за випуск *В.І.Генчева*  
Коректор *Р.Ф. Амінов*