

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования  
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**  
ЮРГИНСКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

---

УТВЕРЖДАЮ  
Зам. директора ЮТИ ТПУ по УР

\_\_\_\_\_ В.Л. Бибик  
«\_\_» января 2016 г.

## **ОСНОВЫ ТОКСИКОЛОГИИ**

### **Лабораторный практикум**

Методические указания для выполнения лабораторных работ по курсу  
«Основы токсикологии» для студентов I курса направления 20.03.01  
«Техносферная безопасность»

*Составитель А.Г. Мальчик*

Типография  
ООО «МедиаСфера»  
2016

УДК 53.02  
ББК 22.3  
Т36

Т36 **Основы токсикологии. Лабораторный практикум:**  
методические указания для выполнения лабораторных работ по  
курсу «Основы токсикологии» для студентов I курса направления  
20.03.01 «Техносферная безопасность» / сост.: А.Г. Мальчик;  
Юргинский технологический институт. – Юрга: Типография ООО  
«Медиафера», 2016. – 14 с.

УДК 53.02  
ББК 22.3

Методические указания рассмотрены и рекомендованы  
к изданию методическим семинаром кафедры  
БЖДЭиФВ ЮТИ ТПУ  
« 15 » января 2016 г.

Зав. кафедрой СП  
кандидат технических наук,  
доцент \_\_\_\_\_ *С.А. Солодский*

*Рецензент*  
Кандидат педагогических наук,  
доцент кафедры СП  
*Е.В. Полицинский*

© Составление. ФГБОУ ВПО НИ ТПУ  
Юргинский технологический институт (филиал), 2016  
© Мальчик А.Г., составление, 2016

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>Лабораторная работа №1.</b> Определение основных токсикологических параметров при действии солей тяжелых металлов на прорастание семян.....	4
<b>Лабораторная работа №2.</b> Влияние времени воздействия хлористого натрия на активность движения одноклеточных организмов .....	5
<b>Лабораторная работа №3.</b> Определение устойчивости клеток различных растений к обезвоживанию серной кислотой.....	6
<b>Лабораторная работа №4.</b> Влияние солей тяжелых металлов на коагуляцию растительных и животных белков.....	7
<b>Лабораторная работа №5.</b> Нейтрализация токсического действия фенола янтарной кислотой.....	8
<b>Лабораторная работа №6.</b> Нейтрализация действия тяжелых металлов на прорастание семян с помощью комплексона Трилон Б.....	9
<b>Лабораторная работа №7.</b> Влияние солей тяжелых металлов на активность микроорганизмов почвы.....	10
<b>Лабораторная работа №8.</b> Влияние солей тяжелых металлов на гликолитическую активность дрожжей.....	11

## **Лабораторная работа №1. Определение основных токсикологических параметров при действии солей тяжелых металлов на прорастание семян**

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

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

### **Оборудование, реактивы, материалы:**

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

### **Ход работы**

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

Приготовленные растворы, а также в качестве контроля дистиллированная вода наливаются в чашки Петри по 5 мл, затем туда же помещаются вырезанные кружки фильтровальной бумаги (в случае последующего анализа состава воды после эксперимента они не вкладываются). Отсчитываются семена редиски или другого растения с коротким временем прорастания и помещаются в количестве 50 или 100 семян в каждую чашку Петри. Каждый вариант готовится в трех повторениях.

Чашки Петри закрываются крышками и помещаются в темное место. По мере высыхания в них добавляются порции дистиллированной воды до первоначального объема. Через 7-8 дней производят подсчет проросших семян (энергия прорастания), длину корешков, вес растений, предварительно подсушенных фильтровальной бумагой. Полученные результаты записываются в таблицу, и на основании этих данных строится график.

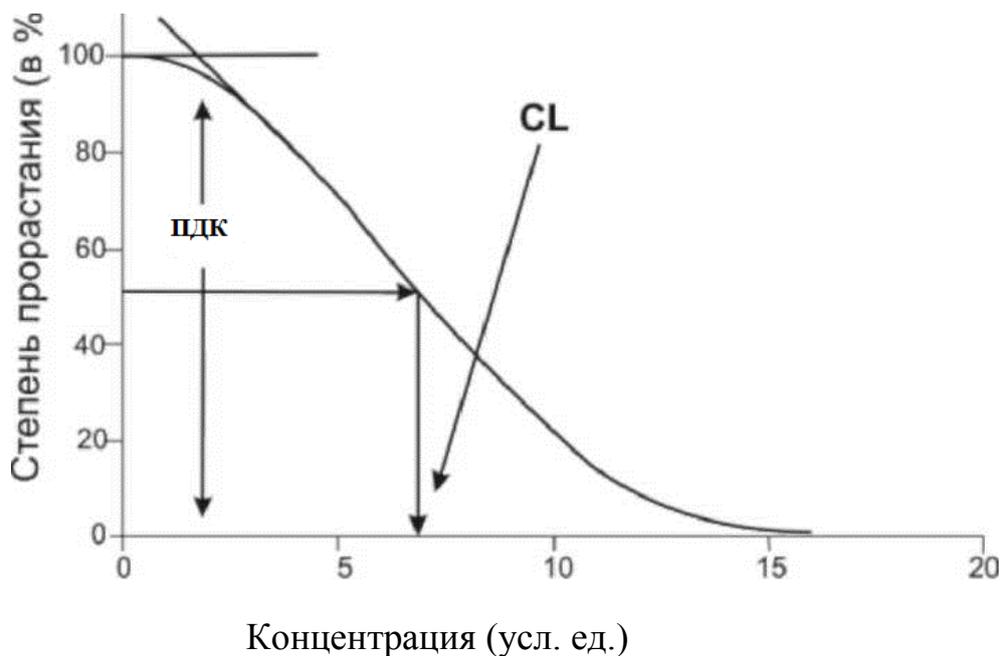


Рис. 1. Зависимость степени прорастания семян от концентрации раствора

На рис. 1. изображена кривая влияния фактора на прорастание семян. Видно, что по мере увеличения концентрации вещества уменьшается величина прорастания семян. На рис. 1 приведены методы определения ПДК как точки пересечения линии, параллельной оси абсцисс, и продолжения кривой зависимости.  $CL_{50}$  определяется как концентрация, при которой наблюдается половинное прорастание семян.

## **Лабораторная работа №2. Влияние времени воздействия хлористого натрия на активность движения одноклеточных организмов**

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

### **Оборудование, реактивы, материалы:**

Микроскоп, секундомер, раствор NaCl 1M; 0,1M; 0,01M; предметное стекло, стеклянная палочка, популяция инфузорий.

### **Ход работы**

Из стакана с водой, содержащего популяцию инфузорий, забирается пипеткой капля и помещается на предметное стекло. Предметное стекло помещается на столик микроскопа и

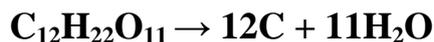
устанавливается общее увеличение  $\times 50$ . В поле микроскопа видна только часть капли, и инфузории пересекают это поле. Скорость движения инфузорий подсчитывается как число появившихся в поле зрения окуляра микроскопа простейших в минуту. Затем рядом с этой каплей наносится капля раствора хлористого натрия в указанных концентрациях, стеклянной палочкой или иголкой соединяются обе капли в одну и начинается определение изменения скорости движения клеток во времени с учетом увеличения общего объема, в течение 30 минут. Величина капель с инфузориями и капель с NaCl может быть легко подсчитана. Скорость движения инфузорий пропорциональна градиенту концентрации ионов  $\text{Na}^+$  в растворе и в организме инфузорий. Полученные данные заносятся в таблицу, и затем на основании этих данных строится график зависимости изменения скорости движения инфузорий от градиента концентрации NaCl. Чем больше градиент концентрации хлористого натрия, тем быстрее ионы натрия попадают в клетки инфузорий и вызывают прекращение движения.

### **Лабораторная работа №3. Определение устойчивости клеток различных растений к обезвоживанию серной кислотой**

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

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

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



Живая клетка отличается от мертвой хорошо выраженным плазмолизом.

#### **Оборудование, реактивы, материалы:**

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

#### **Ход работы**

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

Строят ряд устойчивости клеток разных растений к обезвоживанию (устойчивости к сернистому газу). В случае отсутствия древесных растений можно использовать комнатные.

### **Лабораторная работа №4. Влияние солей тяжелых металлов на коагуляцию растительных и животных белков**

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

#### **Оборудование, реактивы, материалы:**

1) пробирки – 16 шт.; 2) пузырьки из под пенициллина – 8 шт.; 3) стаканчик – 1 шт.; 4) пипетка на 1 мл – 1 шт.; 5) пипетки аптечная – 2 шт.; 6) стеклограф; 7) фильтровальная бумага; 8) 5%-ный раствор сульфата меди; 9) 5%-ный раствор  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ; 10) дистиллированная вода; 11) животный белок (куриного яйца); 12) растительный белок (зернового гороха); 13) этиловый или пропиловый спирт.

#### **Ход работы**

Приготавливают серию растворов сульфата меди, нитрата свинца,

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

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

Ответить на следующие вопросы:

1. На какой из вида белков (животный или растительный) сильнее всего действуют выбранные соли?
2. Какова предельно действующая концентрация выбранных солей?

### **Приготовление растворов белков**

- У куриного яйца отделить белок в мерный стаканчик, размешать его стеклянной палочкой в дистиллированной воде в соотношении 1:10. Затем профильтровать.
- Зерновой вызревший горох перемолоть в муку на кофемолке, развести в соотношении: 10 г гороховой муки на 50 мл 10% -ного раствора хлорида натрия или КСl. Профильтровать.

### **Лабораторная работа №5. Нейтрализация токсического действия фенола янтарной кислотой**

Одним из методов преодоления токсического действия вредного вещества является мобилизация внутренних резервов организма с тем, чтобы компенсировать отрицательное действие токсиканта. Прорастание семян – весьма ответственный этап в развитии растений. В этот момент начинается рост побега из весьма немногочисленных клеток зародыша, при этом первоначальные возможности растения невелики. Поэтому любое неблагоприятное воздействие может оказаться летальным из-за нехватки, например, энергетических

ресурсов у растения, так как еще не развиты пути подачи питательных веществ из эндосперма. Добавление янтарной кислоты, одного из основных субстратов дыхания, позволяет быстро получить энергию клетками в результате активации митохондриального дыхания. Поэтому проростки в большей степени способны противостоять токсическому действию фенола.

#### **Оборудование, реактивы, материалы:**

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

#### **Ход работы**

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

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

### **Лабораторная работа №6. Нейтрализация действия тяжелых металлов на прорастание семян с помощью комплексона Трилон Б**

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

#### **Оборудование, реактивы, материалы:**

Чашки Петри, цилиндры, пробирки, раствор соли тяжелого металла

с концентрацией 0,5М; раствор Трилона Б с концентрацией 0,1М; семена растений.

### **Ход работы**

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

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

## **Лабораторная работа №7. Влияние солей тяжелых металлов на активность микроорганизмов почвы**

Одно из самых важных мест в почвенных экосистемах занимают микроорганизмы. Они являются последней степенью в большинстве пищевых цепей, т. е. суть редуценты. Такие организмы, как плесневые грибки, используют в качестве пищи органические вещества остатков от растений и животных, минерализуя их, делая доступным для растений различные элементы. Тяжелые металлы могут сильно ингибировать их активность.

### **Оборудование, реактивы, материалы**

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

### **Ход работы**

Из первоначального раствора соли тяжелого металла методом последовательных разбавлений в пять раз готовят растворы с концентрацией 0,1М; 0,02М; 0,004М; 0,0008М; 0,00016М; 0,000032М и воды в качестве контроля. 8 мл этих растворов добавляются в чашки Петри, содержащие слой почвы 0,5 см. Поверх почвы накладывают кружок из фильтровальной бумаги. Чашки Петри устанавливаются в темное место, и регулярно поверхность бумаги смачивается, чтобы избежать высыхания. Эксперимент продолжается до тех пор, пока в контрольном варианте желтая плесень грибков *Aspergillus* или темно-зеленая *Trichoderma* не займут большую часть бумажного кружка. Тогда

кружки бумаги вынимают, осторожно освобождая от комочков почвы. Плесневые грибки в ходе своей жизнедеятельности выделяют различные окрашенные вещества, поглощаемые бумагой, и по размеру окрашивания можно судить об активности плесневых грибков. Изображение пятен переносится на кальку, и определяется площадь окрашивания.

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

### **Лабораторная работа №8. Влияние солей тяжелых металлов на гликолитическую активность дрожжей**

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

#### **Оборудование, реактивы, материалы:**

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

#### **Ход работы**

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

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Основы экологии и химии окружающей среды : Лабораторный практикум /Я. И. Вайсман, Т. А. Зайцева, Л. В. Рудакова, Т. В. Нурисламова; Перм. гос. техн. ун-т. - Пермь, 2006.-135 с.
2. Практикум по общей токсикологии / А. А. Кулаков, Н.В. Кремлев; Казан, гос. техн. ун-т им. А. Н. Туполева. - Казань, 2004. - 114 с.
3. Н. В.Чибисова. Практикум по экологической химии / Калинингр. ун-т. - Калининград, 2009. - 122 с.

## **ОСНОВЫ ТОКСИКОЛОГИИ. ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ**

Методические указания для выполнения лабораторных работ  
по курсу «Основы токсикологии» для студентов I курса  
направления 20.03.01 «Техносферная безопасность»

*Составитель*

МАЛЬЧИК Александра Генадьевна

Печатается в редакции составителя

**Отпечатано в Типографии ООО «Медиасфера» в полном соответствии  
с качеством предоставленного оригинал-макета**

Подписано к печати 15.09.2016 г.  
Формат 60×84/16. Бумага офсетная.  
Плоская печать. Усл. печ. л. 3,66. Уч.-изд. л. 3,31.  
Тираж 60 экз. Заказ . Цена свободная.  
Типография ООО «Медиасфера»  
652050, Юрга, ул. Ленинградская, 4.