

Міністерство освіти і науки України
Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника

**Методичні рекомендації до практичних робіт з
дисципліни «Основи екоотоксикології» для студентів
спеціальності 101 Екологія (ОР бакалавр)**

м. Івано-Франківськ 2021

ЗМІСТ

ВСТУП.....	3
Практична робота № 1. КЛАСИФІКАЦІЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНИХ ГРУП ЕКОТОКСИКАНТІВ.....	6
Практична робота № 2. ЗАЛЕЖНІСТЬ «ДОЗА-ЕФЕКТ» В ТОКСИКОЛОГІЇ ...	7
Практична робота № 3. ВИЗНАЧЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ПАРАМЕТРІВ ТОКСИКОМЕТРІЇ	9
Практична робота № 4. ВИЗНАЧЕННЯ ПОХІДНИХ ПАРАМЕТРІВ ТОКСИКОМЕТРІЇ.....	10
Практична робота № 5. ОЦІНКА ТОКСИКАНТІВ ЗА СТУПЕНЕМ НЕБЕЗПЕКИ	11
Практична робота № 6. ОЦІНКА ПЕСТИЦИДІВ ЗА СТУПЕНЕМ НЕБЕЗПЕКИ.....	12
Практична робота № 7. ВИЗНАЧЕННЯ СЕРЕДНЬОЇ ДОЗИ ТОКСИЧНОГО ЕФЕКТУ ЗА МЕТОДОМ БЕРЕНСА.....	13
Практична робота № 8. ВИЗНАЧЕННЯ СЕРЕДНЬОЇ ДОЗИ ТОКСИЧНОГО ЕФЕКТУ ЗА МЕТОДОМ КЕРБЕРА.....	15
Практична робота № 9. НОРМУВАННЯ ЗАБРУДНЕНЬ ОБ'ЄКТІВ ДОВКІЛЛЯ.....	17
Практична робота № 10. ВИЗНАЧЕННЯ НОРМАТИВНИХ ПОКАЗНИКІВ ЗАБРУДНЕНЬ ОБ'ЄКТІВ ДОВКІЛЛЯ.....	18
Практична робота № 11. ВИЗНАЧЕННЯ КУМУЛЯТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН.....	21
ПЕРЕЛІК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	25

ВСТУП

Екотоксикологія – це комплексний науковий напрям, який базується на основних принципах і підходах таких наук як екологія, біогеохімія, відповідні розділи медицини, хімії та ін., об'єктом вивчення якого є біологічні системи різного рівня складності: від організму до екосистеми, які зазнають техногенного забруднення хімічними сполуками, кількість яких неухильно зростає. Цей процес є невідворотним наслідком науковотехнічного прогресу, тому вивчення структури та механізмів впливу ксенобіотиків стає життєво необхідним для суспільства. Екотоксикологія має прикладний характер, оскільки стан природних екосистем, що зазнають хімічного забруднення, є важливим аргументом в процесі прийняття конкретних природоохоронних рішень. Навчальна дисципліна «Основи екотоксикології» забезпечує формування у студентів знань щодо впливу екзогенних токсикантів на живі організми, їх реакцію на дію небезпечних хімічних речовин, механізми пристосування організмів до дії ксенобіотиків та протидії їм.

Мета вивчення дисципліни – сформувані теоретичні уявлення та знання у майбутніх спеціалістів-екологів про вплив екзогенних токсикантів на живі організми, їх реакцію на дію небезпечних хімічних речовин, механізми пристосування організмів до дії ксенобіотиків та протидії їм. Студент повинен оволодіти науковими основами оцінки небезпечності дії хімічних речовин на живі організми і передбачення негативних наслідків цього впливу. Розвинути деякі практичні навички з оцінювання ступені небезпечності впливу та основ його нормування.

Основними **цілями** вивчення дисципліни є:

1. Ознайомлення із дією шкідливих хімічних речовин, які знаходяться в навколишньому природному середовищі на живі організми та їх популяції, що входять в склад екосистем;
2. Вивчення фізико-хімічних та токсичних характеристик основних груп екотоксикантів;
3. Вміння студентів оцінювати ступінь небезпечності впливу екотоксиканту на живі організми;
4. Знання студентів виявляти наслідки, відновлювати біологічні системи та попереджати їх від впливу токсичних речовин;
5. Вміння використовувати методи біоіндикації для вивчення забруднення важкими металами, пестицидами, поліциклічними вуглеводнями та нафтою; застосовувати методи біоіндикації для вивчення забруднення повітря, ґрунту та водойм.

Загальні компетентності:

ЗК01. Знання та розуміння предметної області та професійної діяльності.

Фахові компетентності:

СК14. Здатність управляти стратегічним розвитком команди в процесі здійснення професійної діяльності у сфері екології, охорони довкілля та збалансованого природокористування.

СК15. Здатність до організації робіт, пов'язаних з оцінкою екологічного стану, захистом довкілля та оптимізацією природокористування, в умовах неповної інформації та суперечливих вимог.

СК16. Розуміння основних теоретичних положень, концепцій та принципів математичних та соціально-економічних наук.

СК26. Здатність до участі в управлінні природоохоронними діями та/або екологічними проектами.

Програмні результати навчання

ПР02. Розуміти основні екологічні закони, правила та принципи охорони довкілля та природокористування.

ПР03. Розуміти основні концепції, теоретичні та практичні проблеми в галузі природничих наук, що необхідні для аналізу і прийняття рішень в сфері екології, охорони довкілля та оптимального природокористування.

ПР19. Підвищувати професійний рівень шляхом продовження освіти та самоосвіти.

Структура вибіркової дисципліни «Основи екотоксикології»

К-сть кредитів, годин				
Всього кредитів/ годин	Аудиторних		СРС (год)	Види контролю
	Лекції (год)	Практичні (год)		
6 кредитів / 180 годин	46	46	88	Екзамен

Система оцінювання

Згідно з навчальним планом видами навчальних занять є лекції, практичні заняття, самостійна робота студентів (СРС).

Форма підсумкового контролю – екзамен.

Система методів оцінювання складається із двох видів контролю: поточного та підсумкового.

Поточний контроль включає:

- тестування – така форма контролю дозволяє перевірити підготовку студентів до кожного заняття; проводиться регулярно на вибірковій основі;

- творчі завдання – проводиться з метою формування вмінь і навичок у студентів практичного спрямування, формування сучасного наукового мислення, вміння приймати відповідальні та ефективні рішення;

- самостійна робота – така форма контролю дозволяє виявити вміння чітко, логічно і послідовно відповідати на поставлені запитання, вміння працювати самостійно;

- індивідуальна науково-дослідна робота студентів (презентації дослідно-проектних робіт, звіти про розробку комплексних проектів, контрольні роботи,) – проводиться протягом семестру з метою отримання практичних навиків та умінь щодо використання та опрацювання наукових джерел, написання статей, тез, оформлення звітів, розробка презентаційного матеріалу, використання теоретичних та емпіричних методів дослідження.

Упродовж поточного контролю, на практичних заняттях, студент може максимально отримати 50 балів (35 балів – за усні відповіді на практичних заняттях, 5 балів – за індивідуальну науково-дослідну роботу, 10 – за підсумкову контрольну роботу).

Підсумковий контроль проводиться у формі екзамену (максимальна оцінка – 50 балів). Підсумкова оцінка розраховується за сумою накопичених впродовж вивчення дисципліни балів.

**Тема: КЛАСИФІКАЦІЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНИХ
ГРУП ЕКОТОКСИКАНТІВ**

Мета: ознайомитись з основними представниками ксенобіотиків та їх характерними ознаками, надати токсикологічну оцінку найпоширенішим у навколишнім середовищі токсикантам.

Завдання

1. Охарактеризувати хімічні речовини за варіантом (табл. 1), відповідно до запропонованих ознак: (1.1) назва; (1.2) хімічна формула; (1.3) фізикохімічні властивості; (1.4) джерела потрапляння у навколишнє середовище; (1.5) використання в господарській діяльності (промисловості, побуті, сільському господарстві); (1.6) шляхи потрапляння в організм людини; (1.7) механізми токсичної дії на тварин та людину (на які органи, тканини або процеси в організмі діє; критичні органи чи системи; наявність прояву специфічної дії: мутагенність, канцерогенність, тератогенність тощо); (1.8) прояви гострого отруєння; (1.9) ознаки хронічного отруєння; (1.10) нормування (ГДК, ОБРВ в об'єктах довкілля); (1.11) клас небезпеки; (1.12) 7 заходи безпеки.

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

3. Захистити роботу та відповіді на контрольні питання.

Таблиця 1

Варіанти для індивідуальних завдань

Варіант	Речовини		Варіант	Речовини	
1	Бенз(а)пірен	Хром	11	Залізо	Синильна кислота
2	Радон	Ртуть	12	Діоксид азоту	Іприт
3	Мідь	Нікель	13	Алюміній	Фосген
4	ДДТ пестицид	Свинець	14	Олово	Вінілхлорид
5	Ацетон	Стронцій	15	Метан	Барій
6	Кобальт	Аміак	16	Йод	Хлороформ
7	Цинк	Марганець	17	Фосфор	Ванадій
8	Діоксин	Фтор	18	Сірководень	Бензол
9	Миш'як	Діоксид сірки	19	Чадний газ	Ацетилен
10	Кадмій	Хлор	20	Нітрат натрію	Хлорацетофенон

Контрольні питання

1. Що вивчає екологічна токсикологія?
2. Чим відрізняються поняття «токсикант», «екотоксикант», «ксенобіотик», «суперекотоксикант»?

3. Що представляє собою «ксенобіотичний профіль» навколишнього середовища?

4. Дайте визначення екотоксикантів прямої, непрямой та змішаної дії. Наведіть приклади.

5. Охарактеризуйте види інтоксикації організму.

6. Наведіть найпоширеніші ознаки, за якими класифікують токсиканти.

Практична робота № 2

Тема: ЗАЛЕЖНІСТЬ «ДОЗА-ЕФЕКТ» В ТОКСИКОЛОГІЇ

Мета: ознайомитись з особливостями формування залежності «дозаефект» в токсикології, розрахувати величину ефекту при впливі різних доз і часу токсиканту на організм у випадку потрапляння через дихальні шляхи.

Завдання

1. Вивчити приклад розрахунку значимої величини ефекту при впливі різних доз і часу фосгену на піддослідних тварин.

2. Визначити величину ефекту при впливі різних доз і часу фосгену, що має ознаки набряку легень у кішок, за індивідуальним завданням.

3. Визначити величину значимого ефекту при впливі фосгену, що характеризується летальними наслідками для піддослідних тварин в результаті набряку легень, за індивідуальним завданням.

4. Оформити розрахунки в робочому зошиті.

5. Захистити роботу і відповісти на контрольні питання.

Приклад визначення величини токсичного ефекту за формулою Габера

Задача 1. Визначте величину ефекту при впливі різних доз і часу фосгену, що має ознаки набряку легень у кішок, за даними таблиці 2.

Таблиця 2.

Параметри впливу фосгену на піддослідних тварин

Час впливу t , хв.		10				15				30			65	120
Концентрація, C , мг/м ³	+	-				500	450	150	50	50	40	15	-	15
	о	500	450	75	50	30		20		-			5	10

Позначення: + відповідає загиблим тваринам; о – тим, що вижили.

1. Для розрахунку величини ефекту ($W = C \cdot t$, (1) де W – величина токсичного ефекту; C – концентрація токсину; t – час впливу) приймаємо лише ті значення концентрацій токсину, при впливі яких в часі тварини вижили:

$$W_1 = 500 \cdot 10 = 5000 \text{ мг} \cdot \text{хв.} / \text{м}^3$$

$$W_2 = 450 \cdot 10 = 4500 \text{ мг} \cdot \text{хв.} / \text{м}^3$$

$$W_3 = 75 \cdot 10 = 750 \text{ мг} \cdot \text{хв.} / \text{м}^3$$

$$W_4 = 50 \cdot 10 = 500 \text{ мг} \cdot \text{хв.} / \text{м}^3$$

$$W_5 = 30 \cdot 15 = 450 \text{ мг} \cdot \text{хв.} / \text{м}^3$$

$$W_6 = 20 \cdot 15 = 300 \text{ мг} \cdot \text{хв.} / \text{м}^3$$

$$W_7 = 5 \cdot 65 = 325 \text{ мг} \cdot \text{хв.} / \text{м}^3$$

$$W_8 = 10 \cdot 120 = 1200 \text{ мг} \cdot \text{хв.} / \text{м}^3$$

2. Будуємо графік залежності часу впливу фосгену від його концентрації для тварин, що вижили (рис. 2). Переломлення лінії залежності (крапки із координатами А (10, 75) і В (65, 5) свідчить про значиму величину ефекту впливу доз фосгену у часі.

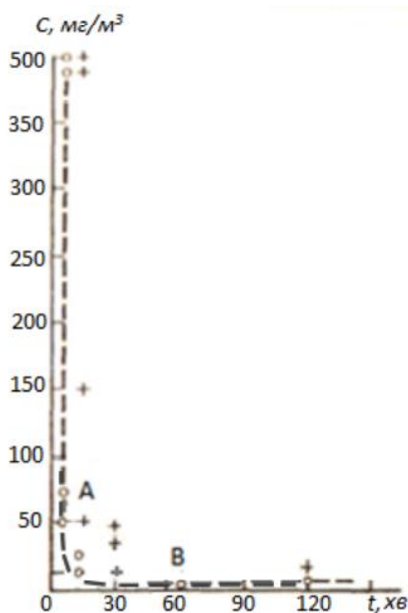


Рис. 2. Графік залежності часу впливу фосгену від його концентрації (координати крапок: + – для загиблих тварин; 0 – для тих, що вижили)

3. Для визначення дійсної величини ефекту знаходимо середнє арифметичне серед значень величин ефекту, які відповідають інтервалу між крапками А і В.

$$W_{\text{заг}} = \frac{750 + 500 + 450 + 300 + 325}{5} = 465 \text{ мг} \cdot \text{хв.} / \text{м}^3.$$

Відповідь: величина дійсного значення ефекту впливу фосгену, що виявляє ознаки набряку легень у піддослідних кішок, складає 465 мг·хв/м³.

Контрольні питання

1. Охарактеризуйте поняття «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 впливає фактор переривчатості впливу токсиканта на виникаючий при цьому ефект?
5. Поясніть сутність формули Габера.

Практична робота № 3

Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ПАРАМЕТРІВ ТОКСИКОМЕТРІЇ

Мета: ознайомитись з основними параметрами токсикометрії, вивчити особливості співвідношення між параметрами токсикометрії та рівнем біологічної дії токсиканта; навчитись оперувати визначеними показниками з метою оцінки токсичності шкідливих речовин.

Параметри (критерії) токсикометрії, які визначаються безпосередньо в експерименті, називаються експериментальними (первинними).

Токсикологічна оцінка починається з одержання даних про смертельні дози (мг/кг, мл/кг) й концентрації (мг/м³, мг/л, мг/кг, %), тобто з встановлення верхніх параметрів токсичності у гострому досліді.

Найбільш статистично значимими параметрами для характеристики токсичності отрут за смертельним ефектом є наступні:

- середня смертельна концентрація в повітрі (CL50) – концентрація речовини, що викликає загибель 50% піддослідних тварин (миші, щури) при двох-, чотиригодинному інгаляційному впливі та подальшому 14-ти денному терміні спостереження; - середня смертельна доза

- (DL50) – доза речовини, що викликає загибель 50% піддослідних тварин при одноразовому введенні в шлунок, черевну порожнину та подальшому 14-ти денному терміні спостереження.

Токсичність отрут тим більше, чим менше величини CL50 й DL50. Середня смертельна доза (концентрація) встановлюється в обов'язковому порядку на декількох (мінімум чотирьох) видах лабораторних тварин з метою вивчення міжвидової чутливості до дії отрути.

Контрольні запитання

1. Назвіть статистично значимі параметри токсикометрії.
2. Як визначаються експериментальні параметри токсикометрії?

2. Визначте поняття середньо-смертельних доз та концентрацій.

Практична робота № 4

Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ПОХІДНИХ ПАРАМЕТРІВ ТОКСИКОМЕТРІЇ

Мета: ознайомитись з основними параметрами токсикометрії, вивчити особливості співвідношення між параметрами токсикометрії та рівнем біологічної дії токсиканта; навчитись оперувати визначеними показниками з метою оцінки токсичності шкідливих речовин.

КМІО – кількісна характеристика здатності хімічної речовини викликати інгаляційне отруєння, тобто відношення летючості речовини (максимально досяжної концентрації в повітрі) при температурі 20°C до величини середньої смертельної концентрації для мишей (при 2-х годинній експозиції та 2-х тижневому строку спостереження):

$$KMIO = \frac{K_{20^\circ}}{CL_{50}}$$

Завдання 1.

За наданими значеннями K_{20° , CL_{50} , $Limac$ та $Limch$ для умовної хімічної речовини обчислити:

- а) зони гострої та хронічної токсичної дії;
 - б) коефіцієнт можливого інгаляційного отруєння КМІО;
 - в) коефіцієнт запасу K_z ;
 - г) величину ГДК.
2. Оформити розрахунки в робочому зошиті.
 3. Захистити роботу і відповісти на контрольні питання.

Контрольні питання

1. У чому полягає сутність поняття пороговості дії шкідливих факторів?
2. Охарактеризуйте критерії оцінки потенційної небезпеки токсикантів.
3. Охарактеризуйте критерії оцінки реальної небезпеки токсикантів.

4. Поясніть особливості співвідношення між параметрами токсикометрії і рівнем біологічної дії токсиканта.

Практична робота № 5

Тема: ОЦІНКА ТОКСИКАНТІВ ЗА СТУПЕНЕМ НЕБЕЗПЕКИ

Мета: ознайомитись з нормативними показниками токсичності шкідливих речовин, навчитись оцінювати шкідливі речовини за ступенем небезпеки згідно визначених параметрів токсикометрії.

Параметри токсикометрії лежать в основі класифікації шкідливих речовин за ступенем небезпеки. Згідно ГОСТ 12.1.007-76 (1999) найбільш шкідливі речовини відносять до першого класу небезпеки, найменш шкідливі – до четвертого (табл. 3). Однак дана класифікація не поширюється на пестициди.

Таблиця 3

Норми і показники, що відповідають класам небезпеки шкідливих речовин

Найменування показника	Норма для класу небезпеки			
	1 клас надзвичайно небезпечні	2 клас високо небезпечні	3 клас помірно- небезпечні	4 клас мало небезпечні
ГДК шкідливих речовин в повітрі робочої зони, мг/м ³	< 0,1	0,1 – 1,0	1,1 – 10,0	> 10,0
Середня смертельна доза (DL_{50}) при введенні в шлунок, мг/кг маси тіла	< 15	15 – 150	151 – 5000	> 5000
Середня смертельна доза (DL_{50}) при нанесенні на шкіру, мг/кг маси тіла	< 100	100 – 500	501 – 2500	> 2500
Середня смертельна (CL_{50}) концентрація в повітрі, мг/м ³	< 500	500 – 5000	5001 – 50000	> 50000
Коефіцієнт можливості інгаляційного отруєння ($KMIO$)	> 300	300 – 30	29 – 3	< 3
Зона гострої дії Z_{ac}	< 6,0	6,0 – 18,0	18,1 – 54,0	> 54,0
Зона хронічної дії Z_{ch}	> 10,0	10,0 – 5,0	4,9 - 2,5	< 2,5
Зона біологічної дії Z_{biol}	> 1000	101-1000	10-100,9	< 10
Порогова концентрація гострої дії Lim_{ac} , мг/л	< 0,01	0,01 – 0,1	0,11 – 1,0	> 1,0
Порогова концентрація хронічної дії Lim_{ch} , мг/л	> 10	10 – 5	4,9 – 2,5	< 2,5

Примітка: шкідливу речовину відносять до певного класу небезпеки за показником, значення якого відповідає найбільш високому класу небезпеки з визначених параметрів

Завдання

1. За обчисленими в роботі № 3 значеннями зони гострої та хронічної токсичної дії, коефіцієнту можливого інгаляційного отруєння КМІО та величини ГДК визначити клас небезпеки токсиканта.
2. Порівняти запропоновані викладачем токсиканти за критерієм екологічної небезпеки згідно визначених параметрів токсикометрії.
3. Оформити розрахунки в робочому зошиті.
4. Захистити роботу і відповісти на контрольні питання.

Контрольні питання

1. Які параметри токсикометрії лежать в основі класифікації шкідливих речовин за ступенем небезпеки.
2. Назвіть особливості віднесення шкідливої речовини до певного класу небезпеки за наявності декількох показників токсичності.

Практична робота № 6

Тема: ОЦІНКА ПЕСТИЦИДІВ ЗА СТУПЕНЕМ НЕБЕЗПЕКИ

Мета: ознайомитись з нормативними показниками токсичності пестицидів, навчитись оцінювати шкідливі речовини за ступенем небезпеки згідно визначених параметрів токсикометрії.

Таблиця 4.

Класифікація пестицидів за ступенем небезпеки (ВООЗ)

Клас небезпеки	DL ₅₀ для щурів, мг/кг			
	При потраплянні через рот		При потраплянні через шкіру	
	тверді речовини	рідини	тверді речовини	рідини
Вкрай небезпечні	менше 5	менше 20	менше 10	менше 40
Дуже небезпечні	5-50	20 - 200	10-100	40 -400
Помірно небезпечні	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
Мало небезпечні	більше 500	більше 2000	більше 1000	більше 4000

Контрольні питання

1. Чим відрізняється класифікація пестицидів за ступенем небезпеки?

**Тема: ВИЗНАЧЕННЯ СЕРЕДНЬОЇ ДОЗИ ТОКСИЧНОГО ЕФЕКТУ
ЗА МЕТОДОМ БЕРЕНСА**

Мета: вивчити особливості визначення середньої дози токсичного ефекту графічним та аналітичним способами, провести оцінку токсикологічної активності шкідливих речовин шляхом альтернативної форми обліку реакцій.

Приклад визначення середньої дози токсичного ефекту за методом Беренса

Практичне використання методу Беренса можна ілюструвати на прикладі обробки експериментального матеріалу з вивчення токсичності тубазіда (табл. 5).

Таблиця 5.

Експериментальні дані з вивчення токсичності тубазіда за методом Беренса

Дози токсиканта, мг/кг	Фактичний результат		«Накопичені частоти»		% загибелі тварин
	загиблі тварини	ті, що вижили	загиблі тварини	ті, що вижили	
150	0	8	0	22	0
160	1	7	1	14	6,7
170	4	4	5	7	41,7
180	6	2	11	3	78,6
190	7	1	18	1	94,7
200	8	0	26	0	100,0

«Накопичення частот» проводиться наступним чином.

Для дози 150 мг/кг, від якої фактично вижило 8 тварин, записуємо результат в стовпчик «накопичені частоти» в табл. 5 наступним чином: загинуло 0 тварин, вижило $8 + 7 + 4 + 2 + 1 = 22$ тварини (тобто додаємо до числа тварин, які фактично вижили, число тварин, які вижили від більш високих доз).

Для дози 160 мг/кг, від якої 1 тварина загинула та 7 вижило, заносимо наступні дані: загинула 1 тварина, вижило $7 + 4 + 2 + 1 = 14$ тварин.

Для дози 170 мг/кг, від якої загинуло в експерименті 4 тварини: загинуло $4 + 1 = 5$ тварин (тобто додаємо одну тварину, загиблу від меншої дози), вижило $4 + 2 + 1 = 7$ тварин і т.д.

Відсоток загибелі тварин розраховується шляхом використання даних стовпчика «накопичені частоти»: сума загиблих тварин та тих, що вижили, приймається за 100%, а число загиблих тварин – за x .

На підставі обчислених за «накопиченими частотами» відсотків смертельних результатів будуємо характеристичну криву (рис. 4). З цієї кривої знаходимо, що величина DL_{50} дорівнює 172,3 мг/кг.

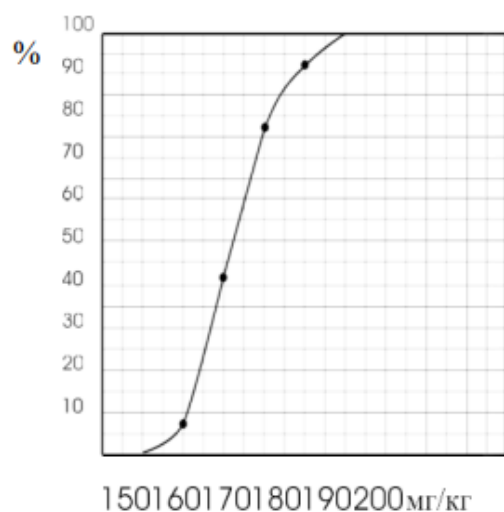


Рис. 4. Графік токсичності тубазіда, побудований за принципом «накопичених частот»

Як зазначалося вище, величину DL_{50} можна визначити без побудови графіка – безпосередньо за даними таблиці 5 і формулою 10.

В цьому випадку:

$d = 10$; $A = 170$ мг/кг; $B = 180$ мг/кг; $a = 41,7\%$; $b = 78,6\%$, отже:

$$DL_{50} = 170 + \frac{(50 - 41,7) \cdot 10}{78,6 - 41,7} = 172,3 \text{ мг/кг}$$

З графіка знаходимо, що $DL_{84} = 183$ мг/кг, а $DL_{16} = 164$ мг/кг.

$$\text{Отже, } e = \frac{DL_{84} - DL_{16}}{2} = \frac{183 - 164}{2} = 9,5 \text{ мг/кг}$$

Інтервал між випробуваннями d в цьому прикладі дорівнює 10 мг/кг, а кількість тварин у групі n дорівнює 8.

Отже, стандартна помилка дорівнює:

$$S_{DL_{50}} = \frac{0,66 \cdot 9,5 \cdot 10}{8} = 2,8 \text{ мг/кг}$$

Таким чином, при визначенні DL_{50} для тубазіда за допомогою методу Беренса отримали:

$$DL_{50} = 172 \pm 2,8 \text{ мг/кг}$$

Середня величина визначеного ефекту вважається достовірною, оскільки перевищує помилку більше, ніж у 3 рази.

Відповідь: для тубазіда $DL_{50} = 172 \pm 2,8$ мг/кг, тому його можна віднести до *помірно небезпечних* речовин за інтенсивністю виникаючих ефектів при введенні в організм через рот (табл. 3).

Тема: ВИЗНАЧЕННЯ СЕРЕДНЬОЇ ДОЗИ ТОКСИЧНОГО ЕФЕКТУ ЗА МЕТОДОМ КЕРБЕРА

Мета: вивчити особливості визначення середньої дози токсичного ефекту графічним та аналітичним способами, провести оцінку токсикологічної активності шкідливих речовин шляхом альтернативної форми обліку реакцій.

Кербер розробив метод обчислення DL50, що не вимагає графічного зображення характеристичної кривої, а використовуються тільки безпосередні результати експерименту.

У кожній групі, так само, як і при користуванні методом Беренса, має бути однакове число тварин. Кербер вважав достатнім, щоб кожна група складалася з 6 тварин, а інтервал між дозами, що випробовуються, не обов'язково повинен бути однаковим. Достатньо випробовувати 4–5 доз, включаючи, з одного боку, дозу, що не викликала ефекту ні в одній тварині в групі, а з іншого боку – дозу, що викликала ефект у всіх тварин групи.

Значення DL50 розраховують за формулою:

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\sum(z \cdot d)}{n}$$

де DL100 – доза досліджуваної речовини, яка викликала ефект у всієї групи тварин; d – інтервал (різниця) між кожними двома суміжними дозами; z – середнє арифметичне з n числа тварин, у яких спостерігався врахований ефект під впливом кожних двох суміжних доз (суміжні дві цифри у графі «загиблі» складається і поділяється пополам), n – число тварин у кожній групі.

Приклад визначення середньої дози токсичного ефекту за методом Кербера

Застосування методу Кербера може бути ілюстровано на прикладі експериментальних даних з визначення токсичності тубазіда, які наведені в табл. 5. Хід обробки показників представлений у табл. 6.

Таблиця 6.

Хід визначення токсичності тубазіда за допомогою методу Кербера

Дози, мг/кг	150	160	170	180	190	200
Вижили, особин	8	7	4	2	1	0
Загинули, особин	0	1	4	6	7	8
Загинули, %	0	12,5	50	75	87,5	100
z	0	0,5	2,5	5	6,5	7,5
d	10	10	10	10	10	10
$z \cdot d$	0	5,0	25,0	50,0	65,0	75,0

$$n = 8; DL_{100} = 200 \text{ мг/кг}$$

$$\sum(z \cdot d) = 5,0 + 25,0 + 50,0 + 65,0 + 75,0 = 220$$

$$DL_{50} = 200 - \frac{220}{8} = 200 - 27,5 = 172,5 \text{ мг/кг}$$

При користуванні методом Кербера для визначення стандартної помилки DL_{50} величина стандартного відхилення повинна бути знайдена з графіка, побудованого на підставі частот, безпосередньо виявлених в експерименті. 23 Якщо побудувати графік залежності між дозами та відсотком загинув тварин, то з нього видно, що $DL_{16} = 158 \text{ мг/кг}$ і $DL_{84} = 188 \text{ мг/кг}$.

Таким чином,

$$e = \frac{DL_{84} - DL_{16}}{2} = \frac{188 - 158}{2} = 15 \text{ мг/кг}$$

Отже, за формулою 11 стандартна помилка складає:

$$S_{DL_{50}} = \frac{0,564 \cdot 15 \cdot 10}{8} = 3,3 \text{ мг/кг}$$

Таким чином, при визначенні DL_{50} для тубазіда за допомогою методу Кербера маємо:

$$DL_{50} = 172,3 \pm 3,3 \text{ мг/кг}$$

Середня величина ефекту вважається достовірною, оскільки перевищує помилку більше, ніж у 3 рази.

Відповідь: для тубазіда $DL_{50} = 172,3 \pm 3,3 \text{ мг/кг}$, тому його можна віднести до *помірно небезпечних* речовин за інтенсивністю виникаючих ефектів при введенні в організм через рот (табл. 3).

Завдання

1. Вивчити приклади визначення середньої дози токсичного ефекту за методами Беренса та Кербера.
2. Визначити середню дозу токсичного ефекту для отруйної речовини, запропонованої викладачем, за допомогою методів Беренса та Кербера.
3. Встановити клас токсичності речовини за значенням DL_{50} (табл.3).
3. Оформити розрахунки в робочому зошиті.
4. Захистити роботу і відповісти на контрольні питання.

Контрольні питання

1. Розкрийте особливості визначення дози, що викликала видимий ефект або летальний результат у 50% піддослідних індивідів.
2. В чому полягає метод Беренса для кількісної оцінки токсикологічної активності шкідливих речовин? 3. Охарактеризуйте принципи методу Кербера для обчислення середньосмертельної дози токсиканта.
4. Поясніть переваги способу Спірмена – Кербера при визначенні середньої дози ефекту для оцінки токсикологічної активності речовин.

Практична робота № 9

Тема: ВИЗНАЧЕННЯ НОРМАТИВНИХ ПОКАЗНИКІВ ЗАБРУДНЕНЬ ОБ'ЄКТІВ ДОВКІЛЛЯ

Мета: ознайомитися з основними принципами нормування забруднення довкілля, визначити тимчасово допустимі концентрації хімічних сполук в повітрі робочої зони (ТДКр.з.) на підставі значень біологічної активності хімічних зв'язків

Головною метою токсикометричних досліджень є встановлення ГДК шкідливих речовин у різних середовищах, які становлять основу санітарного контролю.

Гранично допустима концентрація (ГДК) хімічної сполуки в зовнішньому середовищі – максимальна кількість шкідливої речовини в одиниці об'єму або маси, яка при щоденному впливі протягом необмеженого часу не викликає будь-яких змін в організмі людини і несприятливих спадкових змін у потомства, а також не призводить до порушення нормального відтворення основних ланок екологічної системи природного об'єкта.

ГДК_{сд} – це гранично допустима середня добова концентрація хімічної речовини в атмосферному повітрі населених місць, яка при вдиханні протягом невизначено тривалого періоду (все життя) не викликає прямого або опосередкованого шкідливого впливу на організм людини, мг/м³ .

ГДК_{мр} – це гранично допустима максимальна разова концентрація хімічної речовини в атмосферному повітрі населених місць, яка при вдиханні протягом 30 хв. не викликає рефлекторних реакцій в організмі людини, мг/м³ . В промисловій токсикології найбільш вираженим нормативним показником є значення ГДКр.з.

ГДК_{рз} – це гранично допустима концентрація хімічних речовин в повітрі робочої зони, яка за щоденного 8-годинного перебування на роботі (не більш як 41 година на тиждень) протягом усього робочого стажу не може спричинити захворювань чи відхилень у стані здоров'я людей для нинішнього та наступного покоління, мг/м³. Робочою зоною називається простір заввишки до 2 м над рівнем підлоги або ділянки, на якій знаходиться місце постійного або тимчасового перебування працюючі.

Підставою для встановлення ГДК є концепція пороговості шкідливої дії речовин. Саме це визначення, в більшості випадків, є базою для використовуваних в даний час визначень нормативів системи ГДК. Найбільш коректним є регламентування забруднень на основі результатів експериментів з піддослідними тваринами і урахування коефіцієнтів запасу при перенесенні цих результатів на людину. Однак, зазначені експерименти, як правило, тривалі (від декількох місяців до декількох років) й економічно невиправдані.

У випадках, коли значення ГДК в літературі відсутні (не визначені і (або) не затверджені), в більшості практичних ситуацій допускається користування 25 значеннями тимчасових допустимих концентрацій (ТДК), які визначені розрахунковим шляхом.

Контрольні питання

1. Дайте визначення поняттю «гранично допустима концентрація».
2. Як характеризується гранично допустима концентрація хімічних речовин в повітрі робочої зони?
3. В яких випадках використовується тимчасова допустима концентрація?
4. Яка математична залежність використовується для розрахунку орієнтовних значень ГДК_{рз} промислових отрут, що знаходяться в одних і тих же гомологічних рядах з уже нормованими речовинами?

Практична робота № 10

Тема: ВИЗНАЧЕННЯ КУМУЛЯТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН

Мета: вивчити сутність процесу кумуляції хімічних речовин, визначити кумулятивні властивості токсикантів за кількісними ознаками.

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

Кумуляція може мати місце при комплексоутворенні шкідливої речовини і міцному зв'язуванні її в певному місці організму. Так, наприклад, накопичення радіоактивного стронцію в кістках, йоду в щитовидній залозі, важких металів у нирках, накопичення деяких хлорорганічних інсектицидів в жировій тканині і т.п. Вивчення кумулятивної дії перш за все необхідно при вирішенні завдань з охорони навколишнього середовища, оскільки часто виникають ситуації, коли надзвичайно незначні кількості речовин діють протягом тривалого часу (а іноді протягом життя одного або декількох поколінь) шляхом накопичення або концентрації в трофічних (харчових) ланцюгах.

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

Коефіцієнт кумуляції (K_k) – відношення сумарної дози отрути, що викликає певний ефект (частіше смертельний) у 50% піддослідних тварин при багаторазовому добовому введенні, до величини дози, що викликає той же ефект при одноразовому впливі:

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

Залежно від частоти повторних дослідів і величини повторної дози ефект, зазвичай, може бути різним. Ступінь кумуляції (C_k) – величина, зворотна інтенсивності кумуляції: чим вона менше, тим кумуляція більше

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

Ступінь кумулятивних властивостей шкідливої речовини характеризує реальну небезпеку хронічної інтоксикації, тому коефіцієнт кумуляції повинен враховуватися при гігієнічній регламентації шкідливих речовин в повітрі робочої зони. Для порівняльної оцінки здатності отрут до кумуляції за величиною K_k та C_k запропонована відповідна класифікація (табл. 8).

Таблиця 8.

Класифікація токсикантів за здатністю до кумуляції

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

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

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

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

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

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

Приклад визначення кумулятивних властивостей хімічних речовин

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

Розв'язання.

1. Розраховуємо сумарну дозу при повторних введеннях хімічної речовини:

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

2. Знаходимо коефіцієнт кумуляції K_k та ступінь кумуляції C_k :

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

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

3. Знаходимо індекс кумуляції I_k :

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

Відповідь: дана промислова отрута відноситься до зверхкумулятивних речовин (табл. 8), від яких загибель тварин розтягнута в часі.

Завдання

1. Вивчити особливості розвитку хронічного отруєння.
2. Розрахувати коефіцієнт, ступінь та індекс кумуляції для хімічної речовини, запропонованої викладачем.
3. Оцінити кумулятивні властивості хімічної речовини за величиною коефіцієнта кумуляції (табл. 8).

4. Охарактеризувати отруйні властивості хімічної речовини за величиною індексу кумуляції.
5. Оформити розрахунки в робочому зошиті.
6. Захистити роботу і відповісти на контрольні питання.

Контрольні питання

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

Практична робота № 11

Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ ТОКСИКАНТІВ

Мета: вивчити особливості нормування при комбінованому впливі токсикантів, оцінити можливу шкідливу дію хімічних речовин на організм, які володіють ефектом сумації.

В реальних умовах у навколишньому середовищі на біологічний об'єкт діють, зазвичай, декілька речовин або інших несприятливих факторів (шуми, вібрації, випромінювання, висока і низька температури тощо), що ускладнює загальні наслідки впливу. При цьому може реалізуватися декілька ситуацій.

Комбінована дія – одночасна або послідовна дія на організм декількох токсичних речовин при одному і тому ж шляху надходження. Комплексною називають дію одного або декількох токсичних речовин, які одночасно надходять в організм різними шляхами: через дихальні шляхи з повітрям; через шлунок з їжею і водою; через шкірні покриви. Одночасну або послідовну дію на організм факторів різної природи (хімічних, біологічних, фізичних) називають поєднаною (сукупною) дією. Комбінована дія речовин може призводити до декількох випадків:

- сумація (адитивність, однорідна дія) – коли компоненти діють на одну і ту ж систему рецепторів таким чином, що один компонент може бути замінений іншим без зміни виду токсичної дії, а загальний ефект є простою сумою окремих впливів (суміш вуглеводнів);

- незалежна дія – коли результат впливу кожного фактору (речовини) не залежить від дії будь-якого іншого фактору (речовини), тобто компоненти діють на різні ланки в механізмі взаємодії отрути і організму таким чином, що провокують ефекти, не пов'язані один з одним (характерна для речовин різнонаправленої дії, таких як бензол та дратівливі гази);

- потенціювання (синергізм) – посилення ефекту спільного впливу; ефект більше, ніж сумація (алкоголь значно підвищує небезпеку отруєння аніліном);

- антагонізм – ослаблення ефекту спільного впливу; ефект менше адитивного (езерин значно знижує дію атропіну, тобто є його протиотрутою).

Нормування шкідливих речовин при комбінованій дії здійснюється з урахуванням різновидів впливу: а) Адитивність. Якщо при комбінованій дії токсичних речовин спостерігається ефект адитивності (сумації), їх зміст регламентується формулою Авер'янова:

$$\sum_{i=1}^n \frac{C_i}{ГДК_i} \leq 1$$

де C_i – фактична (вимірювана) концентрація i -тої речовини; $ГДК_i$ – гранично допустима концентрація речовини; n – кількість речовин, що роблять токсичний вплив.

Перелік речовин, які володіють ефектом сумачії

Ацетон, акролеїн, фталевий ангідрид	Оксид вуглецю, двоокис азоту, формальдегід, гексан	Ізопропілбензол, гідроперекис ізопропілбензолу
Фурфурол, метиловий і етиловий спирти	Етилен, пропілен, бутилен і амілен	Ізобутенілкарбінол і диметилвінілкарбоніл
Ацетон, фурфурол, формальдегід, фенол	Сірчистий ангідрид і аерозоль сірчаної кислоти	Метилдігідропіран і метілететрагідропіран
Вольфрамований і сірчистий ангідриди	Сірчистий ангідрид і нікель металевий	Миш'яковистий ангідрид і свинцю ацетат
Валеріанова, капронова і масляна кислоти	Сірчистий ангідрид і сірководень	Миш'яковистий ангідрид і германій
Аерозолі п'ятиокису ванадію і оксиди марганцю	Сірчистий ангідрид і двоокис азоту	Озон, двоокис азоту і формальдегід
Аерозолі п'ятиокису ванадію, сірчистий ангідрид	Сірчистий ангідрид, оксид вуглецю, фенол, пил конвенторного виробництва	Сильні мінеральні кислоти (сірчана, хлористоводнева, азотна, соляна)
Сірчаний і сірчистий ангідриди, аміак та азоту оксиди	Сірчистий ангідрид, оксид вуглецю, двоокис азоту, фенол	Оксид вуглецю і пил цементного виробництва
Сірчистий ангідрид і фтористий водень	Аерозолі п'ятиокису ванадію і оксид хрому	Оцтова кислота і оцтовий ангідрид
Ацетон и ацетофенол	Сірчистий ангідрид і фенол	Фенол і ацетофенол
Гексахлоран і фазолон	Сірководень і диніл	Циклогексан і бензол
Ацетон, фенол	Ацетоальдегід і вінілацетат	Бензол і ацетофенол

б) *Синергізм*. Санітарно-гігієнічна регламентація в цьому випадку на сьогодні не має затвердженого нормативного статусу і носить дискусійний характер.

Найбільш обґрунтованим є наступний спосіб обліку даного ефекту:

$$\sum_{i=1}^n \frac{C_i \cdot K_i}{ГДК_i} \leq 1 \quad (18)$$

де k_i – коефіцієнт посилення при спільному впливі, який визначається експериментально для кожної пари (або іншої кількості в групі) речовин. Так, наприклад, для пари $NO_x + CO$ чисельні значення відповідних коефіцієнтів складають: $k(NO_2) = 3$ і $k(CO) = 1,5$.

в) *Антагонізм*. Нормування при антагонізмі токсичних речовин можливо здійснювати за прикладом синергізму, тільки відповідні коефіцієнти будуть мати значення менше одиниці і називатися коефіцієнтами послаблення. Наприклад, для пари CO і CO_2 вони складають $k(CO) = 0,8$ і $k(CO_2) = 0,5$.

Задача 1. Концентрації і ГДК двох забруднюючих речовин у водному середовищі, які володіють ефектом сумачії, складають: $C_1 = 150$ мг/дм³, $C_2 = 60$ мг/дм³, ГДК₁ = 300 мг/дм³, ГДК₂ = 100 мг/дм³. Визначити ступінь забруднення цими компонентами водного середовища і зробити висновок про відповідність забруднення нормативним вимогам.

Розв'язання: згідно формули 17 сума відносних концентрацій буде дорівнювати: $150/300 + 60/100 = 1,1$, тобто більше 1.

Відповідь: ступінь забруднення водного середовища не відповідає вимогам.

Завдання

1. Вивчити особливості комбінованої дії хімічних речовин.
2. Визначити ефект сумачії для хімічних речовин за індивідуальним завданням.
3. Охарактеризувати отруйну дію хімічних речовин при комбінованому впливі.
3. Оформити розрахунки в робочому зошиті.
4. Захистити роботу і відповісти на контрольні питання.

Контрольні питання

1. Як характеризується взаємний вплив токсикантів?
2. Охарактеризуйте адитивну дію токсикантів при комбінованому впливі.
3. Проаналізуйте дію синергізму при комбінованому впливі.
4. В яких випадках виникає явище антагонізму?
5. Коли комбінований вплив токсикантів виражається незалежною дією?
6. Особливості нормування при комбінованій дії токсикантів.

ПЕРЕЛІК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Трахтенберг І.М. Книга про отрути та отруєння. Нариси токсикології [Текст] / Тернопіль: ТМДУ. – 2008. – 364 с.
2. Гончаренко М.С., Бойчук Ю.Д. Екологія людини: Навчальний посібник / за ред. Н.В. Кочубей. – Суми: ВТД «Університетська книга»; К.: Видавничий дім «Княгиня Ольга», 2005. – 394 с.
3. Каплин В.Г. Основы экотоксикологии [Текст] / Учебник. – М.: Колос, 2007. – 232 с.
4. Общая токсикология [Текст] / Под ред. А.О. Лойта. – СПб: ЭЛБИ-СПб, 2006. – 224 с.
5. Основи екологічної токсикології. Методичні рекомендації до виконання практичних робіт з дисципліни студентами напряму підготовки 6.040106 Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування / І.І. Клімкіна, В.Ю. Грунтова; – Д. : НГУ, 2015. – 44 с.
6. Некос А. Н. Екологія людини : [підручник] / А. Н. Некос, Л. О. Багорова, М. О. Клименко. – Х. : ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2013. – 336 с.
7. Екотоксикологія / В. В. Снітинський, П. Р. Хірівський, П. С. Гнатів, Корінець Ю. Я. та ін. Херсон: ОЛДІ-ПЛЮС, 2019. 395 с.
8. Штабский, Б. М. Учение о кумуляции и его применение в профилактической токсикологии / Б. М. Штабский // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2013. – Ч. 1. – № 2 (32). – С. 8-20.
9. Галькевич І.Й., Осипчук Л.І., Костишин Л.П., Давидович С.І. Методичні рекомендації з вибіркової дисципліни «Екотоксикологія» (практичні заняття). – Львів: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, 2019. – 37 с.