

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»

**ПРАКТИКУМ  
ПО ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ**

Учебное пособие

Составитель  
Е. Ю. Иванова

Воронеж  
Издательский дом ВГУ  
2016

## ТЯЖЕЛЫЕ МЕТАЛЛЫ

Тяжелые металлы по механизмам биологического действия делятся на две большие группы. Эссенциальные входят в состав ферментов и кофакторов, которые участвуют в активации ферментативных реакций. Например, марганец входит в состав ферментов, участвующих в образовании и восстановлении хрящевой ткани, репликации ДНК и многих других биохимических процессах. Цинк входит в состав карбогидразы, которая участвует в тканевом обмене  $\text{CO}_2$ . Медь входит в состав белков сыворотки крови, а у беспозвоночных – в дыхательный пигмент, т.е. у них в прямом смысле голубая кровь. Хром участвует в углеводном и липидном обменах: при сахарном диабете его содержание в тканях человека понижено.

Однако потребность в этих тяжелых металлах очень невелика, а живые организмы склонны к их биоаккумуляции и экологической магнификации. Повышенное содержание эссенциальных тяжелых металлов приводит к физиологическим, нейротоксическим, терратогенным и другим нарушениям.

Неэссенциальные металлы являются абсолютно чужеродными для живых организмов и способны оказывать негативное воздействие в незначительных концентрациях. К ним относятся свинец, кадмий, ртуть и сурьма, а также металлоиды селен и мышьяк.

Все тяжелые металлы достаточно реакционноспособны и могут образовывать комплексные соединения с биологическими молекулами. Этим объясняется физиологическая роль эссенциальных металлов, с другой стороны может приводить к заменам в протетических группах ферментов. Например, ионы ртути, свинца и кадмия способны образовывать прочные комплексы с серосодержащими аминокислотами и ингибировать сотни различных ферментов.

Кроме того неэссенциальные металлы (ртуть, свинец) способны вытеснять эссенциальные из активных центров ферментов, что также приводит к их инактивации за счет изменения конформации белковой молекулы.

Токсический эффект тяжелых металлов связан также с нарушением синтеза различных форм цитохрома P-450, который отвечает за окисление ксенобиотиков и гормонов и других биологически активных веществ. Нарушение функционирования цитохромов P-450 приводит не только к накоплению ксенобиотиков, но и различным физиологическим нарушениям. А повреждение пероксидаз, супероксиддисмутаза и деоксигеназа активирует окислительные процессы в организме, которые могут повреждать биополимеры.

## РТУТЬ

Среднее содержание ртути в литосфере (ее кларк) составляет 83 мкг/кг. Она образует самостоятельные минералы, такие как киноварь и метациннабарит ( $\text{HgS}$ ), ливингстонит ( $\text{HgSb}_4\text{S}_7$ ) и другие. Кроме того, ртуть входит в

Поступление свинца в организм человека способно вызывать острые и хронические отравления. Чаще наблюдаются хронические отравления в регионах расположения металлургических производств. Симптомами являются слабость, быстрая утомляемость, головная боль, бледность, черная свинцовая кайма на деснах возле зубов. В настоящее время отмечают связь между свинцовым загрязнением до рождения и в детстве и снижением уровня интеллекта и способности к обучению. В России постепенно увеличивается численность контингентов, имеющих профессиональный контакт со свинцом.

## КАДМИЙ

Кадмий относится к редким и рассеянным элементам: среднее содержание его в земной коре 0,1 мг/кг. Он не образует самостоятельных рудных месторождений, а является спутником цветных металлов. Основными природными источниками кадмия для атмосферы служат процессы выветривания и вулканизма. В атмосферу естественным путем ежегодно поступает от 100 до 500 т. В гидросферу кадмий попадает в результате эрозии и выщелачивания минералов (примерно 15 000 т в год).

В промышленности кадмий используют в качестве противокоррозионного покрытия, стабилизатора поливинилхлорида, пигмента для пластмасс и стекла, а также электродного материала в никель-кадмиевых аккумуляторах и батареях. В химической промышленности соединения кадмия применяют в качестве катализаторов.

Основными антропогенными источниками кадмиевого загрязнения служат предприятия по добыче цинка и гальваническое производство. Значительные количества кадмия поступают в окружающую среду с городскими отходами, содержащими отслужившие срок батареи и пластмассы: сжигание коммунальных отходов приводит к выделению содержавшегося в пластмассах кадмия в атмосферу.

В сельскохозяйственные почвы кадмий поступает вместе с фосфатными удобрениями, которые содержат примеси соединений кадмия от 25 до 260 г на тонну. Кроме того, он оседает из атмосферы с сухими и влажными выпадениями и накапливается в верхнем пахотном слое. Подвижность кадмия зависит от свойств почв: в легких песчаных кадмий мигрирует по профилю значительно быстрее, чем в высокогумусных, где он сорбируется тонкодисперсными частицами [3].

Из почв кадмий поступает в наземные пищевые цепи, причем есть сведения о его способности к экологической магнификации.

В водных экосистемах накопление кадмия гидробионтами зависит от их способности сорбировать его из воды, а не от положения в цепи питания. Таким образом, в водных экосистемах свидетельства биомагнификации не были получены.

Хроническое воздействие малых концентраций кадмия (10 мкг/л) ингибирует системы ионного транспорта у позвоночных, что приводит к резкому снижению концентрации ионов Са в плазме.

Примером кадмиевого отравления может служить болезнь итаи-итаи, которая приводит к деформациям скелета и многочисленным переломам. Причиной стало загрязнение оросительных вод рисовых полей стоками промышленного предприятия, содержащими незначительную концентрацию кадмия. Первые случаи заболевания были зарегистрированы в Японии в 1947 г., а к 1965 г. от нее погибло 100 человек и еще большее число людей стали инвалидами.

## ДРУГИЕ МЕТАЛЛЫ

### Цинк и медь

Оба эти металла относятся к числу эссенциальных и в то же время наиболее распространенных элементов земной коры. Кларк цинка составляет 50 мг/кг, а меди – 47 мг/кг. Главными природными формами обоих металлов являются сульфидные минералы.

В гидросферу эти металлы поступают при химическом и микробиологическом выщелачивании горных пород.

Цинк и медь образуют прочные комплексы с гуминовыми и фульвокислотами. Особенно интенсивно комплексообразование происходит в щелочных водах. Основные количества Zn и Cu поступают в живые организмы из водных объектов и с пищей. Избыток цинка вызывает у животных снижение содержания в печени меди. В свою очередь медь играет важную роль в метаболизме железа. Токсичность ее объясняется нарушением транспорта железа и образования гемоглобина. Медь остротоксична для большинства пресноводных организмов [2].

*Бериллий* относится к рассеянным элементам; его содержание в земной коре не превышает 0,4 мг/кг. В настоящее время широко применяется в самолето- и ракетостроении (в сплаве с алюминием), а также в качестве замедлителя в атомных реакторах. В окружающую среду поступает антропогенным путем. В атмосферу он поступает также с продуктами сгорания нефти и углей. В гидросферу бериллий поступает также в результате процессов выщелачивания из рудных скоплений. Он образует прочные комплексы с фторид- и сульфат-ионами, а в нейтральной среде – с органическими кислотами.

Бериллий – высокотоксичный элемент с широким спектром биологического действия. Вызываемые им нарушения обменных процессов в значительной мере обусловлены его способностью вытеснять магний, марганец и другие эссенциальные металлы из молекул ферментов. Проникновение бериллия в ядра клеток приводит к снижению активности ферментов синтеза ДНК и ошибкам при делении и репликации дезоксирибонуклеиновых кислот. В опытах на жи-

вотных установлены и канцерогенные свойства бериллия. У сухопутных животных бериллий депонируется в основном в легких и скелете. Нет достаточных сведений о способности бериллия к экологической магнификации.

*Алюминий* относится к числу наиболее распространенных элементов литосферы (880 мг/кг) и широко используемых человеком металлов. Его используют с бериллием в качестве конструкционного материала в машиностроении и строительстве, как катализатор в целлюлозно-бумажной, деревообрабатывающей и кожевенной промышленности, в качестве коагулянта при очистке сточных вод и для осветления питьевой воды.

Промышленные предприятия сбрасывают значительные количества растворимых форм этого металла. Например, в сточных водах алюминиевых комбинатов его концентрации достигают 1000 мг/л, а в сточных водах предприятий по производству спиртов и фенолов – 800–1000 мг/л.

В почвах он содержится в составе ряда минералов и активно выщелачивается при закислении почв. С почвенными растворами активно мигрирует в нижние горизонты и подземные воды. Кроме того, алюминий образует прочные комплексы с гуминовыми и фульвокислотами. В настоящее время возрастает концентрация соединений алюминия в поверхностных водоемах, что, возможно, приводит к сокращению численности рыб. Гидроксиды алюминия способны оседать на поверхности жабр и икринок, что приводит к гибели молоди. Алюминий способен вызывать угнетение корневой системы растений в высоких концентрациях, которые практически не встречаются в реальных условиях.

Нет сведений о биоаккумуляции и экологической магнификации алюминия. Выявлено нейротоксическое действие этого элемента.

### **Работа № 1. Биотестирование токсичности эссенциальных и неэссенциальных тяжелых металлов с помощью проростков одно- и двудольных растений**

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

Опыт может проводиться в двух вариантах.

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

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

Достоверность результатов наблюдений достигается использованием большого числа повторений (не менее 5) в каждом варианте, а также при статистической обработке полученных данных.

**Материалы и оборудование:** чашки Петри; фильтровальная бумага; пипетки мерные на 10 мл; карандаши по стеклу; небольшие пузырьки (пенициллинки) для разведения солей; пластиковые стаканчики; прокаленный песок; растворы солей тяжелых металлов:  $\text{CuSO}_4$  (ПДК 0,004 мг/л)  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  (ПДК 0,03 мг/л),  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  (ПДК 0,0005 мг/л),  $\text{KMgO}_4$  (ПДК 0,01 мг/л).

Семена тест-культур должны принадлежать к одному виду и сорту, соответствовать 1-му классу, быть одного года урожая (предыдущего или непосредственно года проведения исследования), не обработанными протравителями. Предназначенные для проращивания семена предварительно прогревают при температуре 30–40 °С в течение 5–7 суток.

### Ход работы

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

**1 вариант теста.** В чашки Петри выкладывают по 2 кружка фильтровальной бумаги. На подготовленную чашку аккуратно с равными промежутками выкладывают семена. На чашке подписывают номер группы, исследуемое вещество, концентрацию. Затем в каждую чашку аккуратно вносят по 10 мл исследуемых веществ. Накрывают крышкой и помещают в термостат на проращивание при температуре 20 °С. Помимо опытных чашек закладываются контрольные, в которые вместо растворов солей вносят по 10 мл дистиллированной воды [9].

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

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

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

Результаты наблюдений записывают в таблицу.

Схема записи результатов

Испытуемое вещество, концентрация (мг/л)	Номера чашек	Количество проростков	Удельная токсичность $\frac{K-O}{K} \times 100 \%$	Длина проростков, особенности	Удельная токсичность $\frac{K-O}{K} \times 100 \%$
CuSO <sub>4</sub> 0,0004	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
0.004	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
0.04	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
...					
Контроль	1				
	2				
	3				
	4				
	5				

Определяют удельную токсичность в отношении прорастания семян и в отношении нарушения роста проростков. Анализируют наличие морфологических отклонений у проростков. Делают выводы о степени токсичности различных концентраций солей тяжелых металлов на отдельные стороны жизнедеятельности проростков зерновых культур.

**2 вариант теста.** В подготовленные пластиковые стаканчики насыпают прокаленный песок до 2/3 объема. Песок увлажняют растворами солей (по 10 мл), приготовленными так же, как в первом варианте. В каждый ста-