

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО СВЯЗИ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ТЕЛЕКОММУНИКАЦИЙ ИМ. ПРОФ. М.А. БОНЧ-БРУЕВИЧА» (СПбГУТ)**

Кафедра экологии и безопасности жизнедеятельности

**ЗАДАНИЯ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКИХ РАБОТ ПО ДИСЦИПЛИНЕ
«ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ»
Направление подготовки 05.03.06 Экология и природопользование
Разработчик: профессор, д.х.н. Фрумин Г.Т.**

**Санкт-Петербург
2018**

1 Практическое занятие № 1. Токсиканты, формирующиеся

в результате работы современных промышленных предприятий. Воздействие токсикантов на окружающую среду

1.1 Токсиканты, формирующиеся в результате работы современных промышленных предприятий

В народном хозяйстве промышленно развитых стран мира используются несколько сотен тысяч разнообразных по строению и физико-химическим свойствам химических веществ, с которыми контактируют работающие. Это неорганические, органические и элементоорганические соединения. Из неорганических соединений наиболее распространенными являются металлы (ртуть, свинец, олово, кадмий, хром, никель, цинк, марганец, ванадий, алюминий, бериллий и другие) и их соединения, галогены (фтор, хлор, бром, йод), сера и ее соединения (сероуглерод, сернистый ангидрид), соединения азота (аммиак, гидразин, окислы азота), фосфор и его соединения, углерод и его соединения.

Органические соединения, имеющие промышленное значение, также весьма разнообразны и относятся к различным классам и группам веществ. Наиболее часто воздушная среда производственных помещений загрязняется алифатическими и ароматическими углеводородами — метаном, пропаном, этиленом, пропиленом, толуолом, ксилолом, стиролом и их галогенопроизводными — тетрахлорметан, хлорбензолом, хлорированными нафталинами и другими. Спирты и фенолы (метиловый спирт, этиленгликоль,

хлорфенолы, крезолы), а также простые и сложные эфиры, альдегиды и кетоны также производятся и используются в значительных количествах. Весьма значительна

и группа нитро- и аминосоединений жирного и ароматического рядов (нитрометан, метиламин, этиламин, нитробензол, нитротолуолы, анилин, хлоранилины и прочие). Безусловно, это далеко неполный перечень химических

соединений, которые могут оказать неблагоприятное действие на здоровье работающих в различных отраслях промышленности. Все или почти все химические вещества, встречающиеся в процессе трудовой деятельности человека в промышленности в качестве исходных, промежуточных, побочных или конечных продуктов в форме газов, паров или жидкостей, а также пыли, дыма или туманов и оказывающие вредное действие на работающих людей в случае несоблюдения правил техники безопасности и гигиены труда, являются промышленными ядами.

Важнейшей характеристикой химического вещества является степень его токсичности (или ядовитости).

Токсичность — мера несовместимости вещества с жизнью; величина, обратная абсолютному значению средне-смертельной дозы ($1/ DL_{50}$) или концентрации (DL_{50}). Средняя смертельная доза (или концентрация) — количество яда, вызывающее гибель 50 % стандартной группы подопытных животных при определенном сроке последующего наблюдения. Токсичность различных химических соединений для одних и тех же видов животных сильно различается. Так, DL_{50} этилового спирта для белых мышей при введении в

желудок составляет 10000 мг/кг веса тела, а DL_{50} диоксида при том же пути поступления в организм белых мышей равна 0,001 мг/кг. Поэтому

первоначально создавались многочисленные классификации химических веществ (в том числе и промышленных) по величине средне-смертельных доз или кон-центраций для многих видов лабораторных животных (белых мышей, крыс, морских свинок, кроликов и других) при различных путях поступления в организм (ингаляции, введении в желудок, подкожно или внутривенно, аппликации на кожу). Однако в реальных производственных условиях вероятность развития интоксикации тем или иным веществом обусловлена не только его токсичностью, но и возможностью поступления в организм в опасных для жизни количествах. Для характеристики указанной особенности про-

мышленного яда используется понятие "опасность" — вероятность возникновения вредных для здоровья эффектов в реальных условиях производства и применения химических продуктов. По степени воздействия на организм вредные вещества подразделяются на 4 класса опасности:

1-й — вещества чрезвычайно опасные;

2-й — вещества высоко опасные;

3-й — вещества умеренно опасные;

4-й — вещества малоопасные.

Показатели опасности делятся на две группы. К первой группе относятся показатели потенциальной опасности — летучесть вещества (или ее производное — коэффициент возможности ингаляционного отравления (КВИО), равный отношению летучести к токсичности при ингаляции в стандартных условиях: 20 °С, экспозиция — 2 ч, мыши), растворимость в воде и жирах и другие (например, дисперсность

аэрозоля). Эти свойства определяют возможность попадания яда в организм при вдыхании, попадании на кожу.

Ко второй группе относятся показатели реальной опасности — много-численные параметры токсикометрии и их производные:

1 Токсичность — обратно пропорциональна смертельным дозам (концентрациям), прямо пропорциональна опасности.

2 Производные параметры токсикометрии — зона острого действия Z_{ac} , зона хронического действия Z_{ch} .

Понятие зоны острого действия было предложено одним из основателей российской промышленной токсикологии профессором Н.С. Правдиным. Вещество тем опаснее для развития острого отравления, чем меньше разрыв между концентрациями (дозами), вызывающими начальные признаки отрав-

ления, и концентрациями, вызывающими гибель. Так, например, аммиак имеет $Z_{ac} > 100$ (естественный продукт метаболизма, к которому организмы приспособились). Это вещество мало опасно в смысле острого отравления. В то же время, например, амиловый спирт имеет очень узкую зону острого дей-

ствия ($Z_{ac} = 3$). Это опасное вещество в плане возможности развития острого отравления. Что касается зоны хронического действия, связанной с кумулятивными свойствами веществ, то ее величина прямо пропорциональна опасности хронического отравления.

1.2 Воздействие токсикантов на окружающую среду

Экотоксикология осуществляет оценку экотоксикологического риска применения химических продуктов по самым разнообразным

критериям; однако, в конечном итоге, она должна служить защите окружающей среды и самого человека. Ущерб здоровью домашних и диких животных от воздействия химических веществ следует оценивать на строго индивидуальной основе.

Допустимый уровень вреда для теплокровных животных принимается более низким, чем, например, для насекомых, не только с антропоцентрической точки зрения. Это объясняется также тем, что насекомые имеют значительно более короткий жизненный цикл и более высокий уровень репродукции (воспроизводства) популяции. Для насекомых наиболее важен вопрос о дальнейшем существовании вида; что касается домашних животных, то тяжело ощущается влияние вредных веществ даже для небольших групп особей.

Важнейшее значение имеет общая сумма нанесенного вреда. В противоположность полной гибели рыбы по всей длине реки, гибель некоторого количества рыб вблизи источника загрязнения химическими веществами считается вполне приемлемой.

В природных условиях растительные и животные популяции подвергаются сильным флуктуациям численности, например, из-за резких климатических изменений, которые, однако, все же находятся в определенных границах, а динамика и изменения во времени естественны в любой экосистеме.

Комплекс специфических реакций живого организма —
биоиндикато-

ра (или какого-либо биологического элемента: группы клеток, ткани, органа)

- на воздействие определенного вещества или группы веществ называется биоиндикацией. С помощью биоиндикаторов можно регистрировать и оценивать присутствие загрязнителей и их концентрационные

характеристики, а следовательно анализировать и контролировать состояние окружающей среды.

Нанесение вреда экосистеме можно определить как такое ее регрессивное развитие, при котором наблюдается снижение численности популяции ниже обычного значения. Во многих исследованиях критерием вредного воздействия химического вещества считают нарушения процессов, протекающих в экосистеме, к примеру, снижение энергии в экосистеме.

Однако, с общей точки зрения, при испытаниях возможных токсических воздействий в качестве параметров следует использовать показатели структуры и функции экосистемы, а также динамику их взаимодействий.

На рисунке 1 показаны основные направления экотоксикологических воздействий антропогенных химических веществ на наземные и водные экосистемы.

Вредное воздействие ксенобиотиков тесно связано с видом и объемом экспозиции. Основные типы поведения химических веществ приводятся на рисунке 2.

При недостатке надежных данных о воздействии веществ на экосистему часто приравнивают понятия «экспозиция» и доза «воздействия». Такие своеобразные представления имеют под собой некоторое основание, поскольку требуется дополнительный подбор более надежных данных о вредных воздействиях. Это обстоятельство подтверждает нашу неспособность сделать вывод о причинах вредных последствий только на основе наблюдений в натуральных условиях при недостаточно ярких

проявлениях воздействий (ретроспективный подход к выявлению и контролю воздействий вредных веществ).

Исследование воздействий вредных веществ возможно проводить на различных уровнях в указанной ниже последовательности.

1-я стадия - токсикологические исследования. Эта стадия включает, в основном, кратковременные испытания (экспресс-тесты) в искусственных средах для определения острой токсичности на специально отобранных изолированных видах. На этой стадии проводят также изучение влияния на рост и репродукцию микроорганизмов. Как правило, результатом таких исследований является определение степени токсичности данного химического вещества для рыб, водорослей и дафний.

На этой же стадии проводится поиск чувствительного к испытанию вида, жизнедеятельность которого имеет большое значение для экосистемы. Например, его фотосинтетическая активность или биохимический процесс синтеза аденозин - трифосфорной кислоты (АТФ) зависят от экспозиции химического вещества (как косвенный параметр для определения количества биомассы в экосистеме).

Здесь же проводят исследования синергических или аддитивных эффектов.

2-я стадия - экотоксикологические исследования. Предметом экоток-

сикологии является исследование воздействий антропогенного вещества на популяции (соответственно, биоценозы) в экосистемах и их частях. Эта научная дисциплина изучает как прямой ущерб, вызванный воздействием химического вещества, так и вторичные воздействия на

«незатрагиваемые» непосредственно организмы, а также на абиотические компоненты системы.

Технические методы включают испытания на комплексе видов. Лабораторные системы с комплексом видов позволяют исследовать взаимодействия между популяциями при контролируемых условиях, например, функцию биопроизводительности вида в конкурентных условиях, влияние цепей питания.

Основными целями испытаний системы, содержащей комплекс видов,

являются:

- имитация природных экосистем таким образом, чтобы появилась возможность исследовать имеющиеся в системе организмы во всех их взаимосвязях;
- испытания различных экспозиций и воздействий на одной и той же модели экосистемы по характеру распределения, биоаккумуляции, хронической и острой интоксикации.

3-я стадия - исследования и наблюдения в натуральных условиях.

Они включают обследование воздействий на все живое в биотопе/экосистеме как по структуре, так и по функциям. опыты и наблюдения продолжают, как правило, в течение длительного времени — иногда на протяжении нескольких вегетационных периодов, чтобы выявить и хронические воздействия вблизи сублетальных доз химических веществ.

Наблюдения в натуральных условиях имеют в большинстве случаев ретроспективный характер и обеспечивают проведение анализа уже достаточно ярко выраженных нарушений. натурные испытания позволяют ставить эксперименты таким образом, чтобы учитывать ретроспективные

воздействия, с целью установить способность системы к регенерации после того, как на нее направленно воздействовали потенциально токсичным веществом. Как обычные наблюдения, так и эксперимент в натуральных условиях одинаково важны, на их основе либо можно установить снижение вредного воздействия, либо оказывается возможным прогнозировать уровень нанесенного вреда.

Важнейшие экологические критерии планирования и порядка проведения экспериментов в лаборатории и в натуральных условиях следующие.

1.2.1 Классификация экотоксикантов, влияние химического загрязнения на биоразнообразие и на человека

В широком спектре антропогенных воздействий на окружающую среду (физические, химические и биологические) химические стрессы рассматриваются сегодня как наиболее приоритетные – ввиду того, что во всех сферах деятельности человека мы имеем дело со многими тысячами химических веществ (а всего их известно уже более десяти миллионов). Использование многих из этих веществ для решения производственных задач, в том числе в промышленности, энергетике, сельском хозяйстве и на транспорте, приводит, к сожалению, к негативным эффектам на экосистемы, растения, животных и человека.

Очевидно, что значительное увеличение населения планеты Земля в XX столетии, сопровождавшееся и сопровождающееся существенным ростом потребления природных ресурсов и производства продуктов питания, одежды, строительных материалов привело к усилению химического воздействия на атмосферу, почвы, водные экосистемы и, как

следствие, к ухудшению качества окружающей среды и состояния живых организмов.

Многочисленные исследования подтверждают, что химические стрессы оказывают свое негативное воздействие не только в случаях, когда живые организмы подвергаются одномоментному влиянию значительных количеств токсичных веществ (что, как правило, сразу же приводит к смертельному исходу), но и тогда, когда имеет место постоянное воздействие малых доз (в том числе и в пределах так называемых предельно допустимых концентраций

— ПДК). Второй тип химического стресса также является весьма опасным для живых организмов, которые по разным причинам (малый возраст, слабость и т. п.) оказываются не в состоянии метаболизировать попадающие в них токсичные вещества и оказываются подверженными их поражающим эффектам.

Посмотрим, какие именно органические (таблица 1),
неорганические

(таблица 2) и металлоорганические (таблица 3) экотоксиканты являются при-оритетными с точки зрения негативного влияния на окружающую среду и живые организмы.

При рассмотрении основных типов органических, неорганических и металлоорганических экотоксикантов в таблицах 1 - 3 необходимо помнить, что негативные эффекты этих токсичных веществ определяются в значительной мере их химической природой. Однако основным фактором, обуславливающим проявление токсического воздействия, является концентрация экотоксиканта в живом организме (растении, животном, человеке). Чрезвычайно важно знать, что во всей последовательности процессов (поглощение, биотрансформация,

детоксикация, выведение и аккумуляция) ключевую роль играет последний, определяющий накопление экотоксиканта в организме.

Таблица 1 – Основные типы органических экотоксикантов, их источники и обусловленные ими стрессы

Токсиканты	Основные источники	Типы химических стрессов
Полиядерные ароматические углеводороды (ПАУ)	Образуются при неполном сгорании древесины, угля и нефтепродуктов	Возникновение раковых опухолей
Хлорзамещенные алкены (три- и тетрахлорэтилены)	Химчистки, использующие эти вещества в качестве растворителей	Канцерогенез, мутагенез и воздействие на центральную нервную систему
Хлорированные фенолы (три- и пентахлорфенолы)	Коммерческие средства сохранения древесины	Повреждения печени и почек, хлоракне, паралич конечностей, влияние на сердце и слизистые оболочки
Хлороформ и другие продукты хлорирования питьевой воды	Использующие хлорирование станции водо подготовки	Обуславливают канцерогенез, негативно влияют на печень и сердце
Полихлорированные бифенилы (ПХБ)	Трансформаторные и смазочные масла, пластификаторы	Накапливаются в жировых тканях биоты и вызывают токсическое действие
Полихлорированные дибензодиоксины (ПХДД) и дибензофураны (ПХДФ)	Микропримеси в ПХБ, хлорфенолах, 2,4,5-Т, продуктах сгорания поливинилхлоридов (ПВХ) и отбеленной целлюлозе	Являются самыми токсичными антропогенными веществами
Альдрин, гептахлор, ДДТ, дieldрин и хлордан	Хлорорганические пестицидные препараты	Растворяются в жировых тканях

При этом необходимо сознавать, что биоаккумуляция представляет собой накопление токсиканта в организме из всех источников (вода, воздух, пища) и отличается от биоконцентрирования, которое представляет собой только накопление токсиканта из воды.

Таблица 2 – Основные типы неорганических экотоксикантов, их источники и обусловленные ими стрессы

Токсиканты	Основные источники	Типы химических стрессов
Газы (CO, NO ₂ SO ₂)	Выбросы промышленных предприятий и автотранспорта	Моноксид углерода обуславливает кислородную недостаточность. Диоксиды азота и серы вызывают болезни легких, а SO ₂ способствует некрозу листьев растений.
Нитраты и нитриты	Азотные удобрения	Высокие концентрации в питьевой воде вызывают метгемоглобинемию («синдром голубого ребенка»)
Алюминий	Сточные воды	При низких значениях pH приводит к гибели организмов в водных системах
Кадмий	Производство цинка и сплавов, гальваника и сигареты	Токсичность и канцерогенез
Медь	Кабельное производство, электроника	Токсична при высоких концентрациях
Мышьяк	Пестициды, сплавы, зола	Проявляет токсичность и канцерогенез

Никель	Сплавы, покрытия, аккумуляторы	Вызывает образование раковых опухолей и проявляет токсичность
Ртуть	Производство щелочи и хлора, добыча золота, электроника, катализ	Высокотоксична и легко накапливается в организмах, проявляя разрушающее воздействие на внутренние органы и центральную нервную систему
Свинец	Бензин, краски, аккумуляторы, керамика	Токсичен, вызывает анемию и психические расстройства
Селен	Электроника, сплавы, стекло	Весьма токсичен
Хром	Катализаторы, краски, сплавы	Cr(VI) — канцерогенен и более токсичен, чем Cr(III)
Цинк	Гальваника, сплавы	Токсичен, но меньше, чем вышеприведенные металлы

Таблица 3 – Основные типы металлоорганических экотоксикантов, их источники и обусловленные ими стрессы

Токсиканты	Основные источники	Типы химических стрессов
Производные трибутил- и трифенил-	Краски для судов, стабилизаторы ПВХ, каталитиче-	Вызывают половые превращения моллюсков. Триметильные и три-

олова	ские процессы	этильные производные олова являются нейротоксикантами
Производные метилртути	Используются как биоциды и образуются при метилировании в окружающей среде	Соединения метилртути и некоторые другие органические производные ртути вызывают существенные повреждения нервной системы у биоты и человека
Алкильные производные свинца	Автомобильное топливо	Me_4Pb и Et_4Pb , попадая в организм, претерпевают превращения в производные триалкилсвинца и нарушают нормальные функции нервной системы

Некоторые данные, полученные в самое последнее время в России и за рубежом, показывают, что химическое загрязнение экосистем вообще и водных экосистем в частности может играть важную роль в глобальной проблеме биоразнообразия. Это наглядно подтверждают результаты исследования биоаккумуляции различных типов органических экотоксикантов (полиядерные ароматические углеводороды, фенолы, хлорорганические и некоторые другие соединения) в трофических цепях озера Байкал. В частности, показано, что если в природной воде содержание приоритетных органических экотоксикантов находится на уровне, соответствующем П ДК, это еще не является гарантией того, что биоте в данной водной экосистеме не угрожает серьезная опасность.

Следовательно, для сохранения биоразнообразия необходимо избегать такой ситуации, чтобы высокотоксичные ксенобиотики вообще не поступали в окружающую среду в сколько-нибудь концентрациях.

В современной экологической токсикологии существует понятие «су-

1

9

перекотоксиканты» — химические вещества, вызывающие наиболее серьезные проблемы со здоровьем у человека, обусловленные поступлением в окружающую среду этих ядов: например, диоксины и соединения ртути.

Диоксины – краткое название большой группы высокотоксичных экотоксикантов – полихлорированных дибензодиоксинов (ПХДЦ, I) и дибензофуранов (ПХДФ, II). Так, экспериментально доказан факт, что во время лактации происходит экстракция диоксинов и фуранов из организма женщины и концентрирование их в грудном молоке. За весь период вскармливания женщина передает ребенку до 40 % содержащихся в ней диоксинов и фуранов.

Ртуть и ее соединения до осуществленной человеком научно-технической революции не оказывали существенного влияния на окружающую среду, так как их концентрации в природе были крайне малы. По мере развития цивилизации следования и применения ртути и ее соединений становились все более интенсивными. Это антропогенное влияние существенно нарушило биогеохимический цикл ртути, в результате чего биосфера наряду

с влиянием других экотоксикантов стала испытывать и негативные эффекты ртути и ее производных.

В настоящее время наиболее распространенными в окружающей среде являются: металлическая ртуть Hg, ее неорганические соединения — соли двухвалентной ртути типа HgX, и органические производные — ртутьорганические соединения типа RHgX и R₂Hg.

Пары металлической ртути в концентрациях 0,01- 0,03 мг/м³ вызывают меркуриализм — болезнь, на первую стадию которой указывают снижение мышечной активности, быстрая утомляемость и повышенная возбудимость. На второй стадии наблюдаются головные боли, беспокойство, ослабление памяти, раздражительность и неуверенность в себе. На третьей стадии нарушаются сердечная деятельность, периферическая нервная система, секреторная функция желудка, проявляются головокружения, потливость, гиперфункция щитовидной железы. Рост стажа работы с ртутью приводит к развитию заболевания, при котором у женщин растет число выкидышей, имеют место пороки развития, скрытые отеки и недостаточность защитных механизмов.

Особую тревогу вызывают метилртутные соединения (содержащиеся, главным образом, в дарах моря), которые хорошо поглощаются и накапливаются человеческим организмом.

Таким образом, проблема влияния химических стрессоров на биоту и человека приоритетна в плане сохранения и разнообразия и здоровья человечества.

Задание

1 Назовите наиболее часто встречающиеся загрязнения углеводородами воздушной среды производственных помещений.

2 Можно ли к промышленным ядам отнести пыль, пар и дым?

3 Чем обусловлена различная токсичность одних и тех же химических соединений для одних видов животных?

4 Каковы побочные реакции воздействия токсикантов на отдельные виды организмов:

а) образование вторичных токсичных метаболитов; изменение рН

б) содержание углерода, метаболизм

в) разрывы трофической структуры

5 Расположите последовательно процессы воздействия токсикантов на окружающую среду:

а) биоусвоение, аккумуляция;

б) равномерная экспозиция;

в) долговременная минерализация.

6 Какой процесс играет ключевую роль, определяющий накопление экотоксиканта в организме:

а) биотрансформация;

б) поглощение;

в) аккумуляция.

7 Какие типы химических стрессов возникают в результате воздействия хлорированных фенолов:

а) накапливаются в жировых тканях

биоты; б) возникновение раковых

опухолей;

в) паралич конечностей, влияние на слизистую оболочку.

8 Источником какого вида токсиканта являются азотные удобрения:

а) алюминий;

б) кадмий;

в) нитраты и нитриты.

2 Практическое занятие № 2. Параметры токсикометрии. Кривая «Доза-эффект»

Спектр проявлений токсического процесса, определяются строением токсиканта. Однако выраженность развивающегося эффекта является функцией количества действующего агента.

Для обозначения количества вещества, действующего на биологический объект, используют понятие - доза. Например, введение в желудок крысы весом 250 г и кролику весом 2000 г токсиканта в количестве 500 мг,

означает, что животным введены дозы равные соответственно 2 и 0,25 мг/кг (более подробно понятие "доза" будет рассмотрено ниже).

Зависимость "доза-эффект" может быть прослежена на всех уровнях организации живой материи: от молекулярного до популяционного. При этом

в подавляющем большинстве случаев будет регистрироваться общая закономерность: с увеличением дозы - увеличивается степень повреждения системы; в процесс вовлекается все большее число составляющих её элементов.

В зависимости от действующей дозы практически всякое вещество в определенных условиях может оказаться вредным для организма. Это справедливо для токсикантов, действующих как местно, так и после резорбции во внутренние среды.

Таблица 4 - Зависимость между концентрацией формальдегида во вдыхаемом воздухе и выраженностью токсического процесса

Концентрация ($\text{см}^3/\text{м}^3$ - ppm)	Клинические проявления
0,01 - 0,05	Раздражение глаз
0,05 - 1,00	Непереносимый запах
0,05 - 3,00	Раздражение верхних дыхательных путей
3,00 - 10,00	Сильное раздражение слизистой дыхательных путей
10,00 - 30,00	Раздражение глубоких дыхательных путей
50,00 - 100,00	Воспалительный процесс в легких; токсический отек

Таблица 5 - Зависимость между концентрацией этанола в крови и выраженностью токсического процесса

Концентрация мг/100 мл	Клинические проявления
20 – 99	Изменение настроения; прогрессирующее нарушение координации движений, сенсорных функций; изменение поведения
100 - 199	Выраженные нарушения мышления; увеличение времени реакции на внешние раздражители; атаксия
200 - 299	Тошнота; рвота; выраженная атаксия
300 - 399	Гипотермия; дизартрия; амнезия; 1 стадия анестезии
400 - 700	Кома; угнетение дыхания; смерть

На проявление зависимости "доза-эффект" оказывает существенное влияние внутри- и межвидовая изменчивость организмов. Действительно, особи, относящиеся к одному и тому же виду, существенно отличаются друг от друга по биохимическим, физиологическим, морфологическим характеристикам. Эти отличия в большинстве случаев обусловлены их генетическими особенностями. Еще более выражены, в силу тех же генетических особенностей, межвидовые различия. В этой связи дозы конкретного вещества, в которых оно вызывает повреждение организмов одного и того же и, тем более, разных видов, порой очень существенно различаются. Следовательно, зависимость "доза-эффект" отражает свойства не только токсиканта, но и организма, на который он действует. На практике это означает, что количественную оценку токсичности, основанную на

изучении зависимости "доза-эффект", следует проводить в эксперименте на различных биологических объектах, и обязательно прибегать к статистическим методам обработки получаемых данных.

2.1 Кривая "Доза-эффект"

В общем виде можно предположить, что кривая "доза-эффект" аго-ниста в полулогарифмических координатах (логарифм дозы - выраженность эффекта) принимает S - образную форму не зависимо от целого ряда качественных и количественных особенностей оцениваемой функции. Метод, с помощью которого изучается зависимость, то ли постепенное добавление токсиканта в инкубат, то ли однократное действие вещества на биообъект в возрастающих концентрациях, не оказывают существенного влияния на результат, если эффект не оценивается в абсолютных значениях, а выражается в процентах от максимально возможного (100 %). Применение относительных величин целесообразно хотя бы потому, что любой биологический препарат, при самом тщательном приготовлении, уникален во всех своих свойствах, в том числе и по чувствительности к химическим веществам. Кроме того, в ходе эксперимента реакционная способность препарата падает. Эти обстоятельства и предполагают обязательную стандартизацию объекта перед исследованием. Графическое представление кривой "доза-эффект" токсиканта P в сравнении с кривой для некоего стандартного вещества дает всю необходимую информацию о действии P , включая его токсикометрические характеристики.

Поскольку непосредственное сравнение кривых, получаемых в ходе эксперимента, осуществлять технически сложно, чаще сравнивают важнейшие параметры кривых.

Основным параметром зависимости "доза-эффект" для определенно-

го токсиканта и биологического объекта является величина среднеэффективной дозы (ED_{50}), то есть такая доза вещества, при действии которой на объект

развивается эффект, равный 50 % от максимально возможного. При работе на изолированных органах обычно используют величину EC_{50} (среднеэффективная концентрация вещества в пробе). Эффективные дозы обычно измеряют в

единицах массы токсиканта на единицу массы биологического объекта (например, мг/кг); эффективные концентрации - в единицах массы токсиканта на единицу объема используемой среды (например, г/литр; М/литр). Вместо величины ED_{50} иногда используют её отрицательный логарифм: $-\log ED_{50} = pD_2$.

Другим параметром зависимости "доза-эффект" является относительная активность токсиканта, величина, определяемая как отношение эффекта, вызываемого токсикантом в данной дозе, к максимально возможному эффекту, развивающемуся при действии на биосистему. Это характеристика определяется, как указывалось выше, величиной внутренней активности вещества (α_E).

В узком смысле слова это понятие описывает феномен различия свойств агонистов, с учетом четко очерченных представлений о механизме их токсического действия. Однако в настоящее время его не редко трактуют в расширенном смысле, как показатель сравнения активности веществ, обладающих определенными свойствами, без учета механизмов, посредством которых они инициируют наблюдаемый эффект.

Уже указывалось, что на одном и том же биологическом объекте можно поставить ограниченное количество токсикологических экспериментов (в простейших случаях - ввести животному дозу вещества; добавить в инкубационную среду, содержащую изолированный орган, вещество в возрастающей концентрации и так далее). Поиск зависимости "доза-эффект" для одного, и тем более, нескольких токсикантов требует постановки множества экспериментов, что предполагает использование большого количества биологических объектов. В этой связи исследователь сталкивается с явлением биологической изменчивости. Даже при тщательном отборе встречаются объекты, как чрезвычайно чувствительные, так и малочувствительные к действию химических веществ, что приводит к известной variability получаемых результатов. Необходимо иметь в виду, что способ учета этого феномена в ходе анализа экспериментальных данных часто оказывает влияние на итоговые значения изучаемых характеристик токсикантов.

В основе учета феномена биологической изменчивости лежит метод усреднения полученных данных. При установлении величины ED_{50} , оказываемая безразличным проведено ли усреднение доз, вызывающих одинаковый эффект на нескольких биообъектах, либо значений эффектов, полученных при действии определенных доз токсиканта (рисунок 3). Если же поставлена задача получить результирующую кривую "доза-эффект", то усреднению подлежат только дозы, вызывающие со стороны биообъекта эффекты определенной выраженности. При ином подходе (усреднение эффектов) наблюдается существенное снижение крутизны итоговой кривой "доза-эффект" в сравнении исходными данными.

Задание

1 Выведите формулу расчета дозы введенного токсиканта в мг/кг веса животного

2 Какая концентрация формальдегида во вдыхаемом воздухе вызывает сильное раздражение дыхательных путей:

а) 3,00-10,00 см³/м³;

б) 10,00 – 30,00

см³/м³; в) 0,05-1,00

см³/м³.

3 Что показывает кривая «доза-эффект»?

4 Перечислите основные параметры кривой «доза-эффект»?

5 Каким образом можно получить результирующую кривую при по-строении серии кривых «доза-эффект»?

3 Практическое занятие № 3. Противоядия, модифицирующие метаболизм ксенобиотиков. Разработка новых антидотов

3.1 Противоядия, модифицирующие метаболизм ксенобиотиков

Как известно многие ксенобиотики подвергаются в организме метаболическим превращениям. Как правило, это сопряжено с образованием продуктов, значительно отличающихся по токсичности от исходных веществ, как

в сторону её уменьшения, так, порой, и в сторону увеличения. Ускорение метаболизма детоксицируемых ксенобиотиков и угнетение превращения веществ, подвергающихся биоактивации - один из возможных подходов к разработке противоядий. В качестве средств, модифицирующих метаболизм, могут быть применены препараты, изменяющие активность ферментов первой и второй фаз метаболизма: индукторы и ингибиторы микросомальных ферментов, активаторы процессов конъюгации, а также вещества, модифицирующие активность достаточно специфично действующих энзимов, и потому активных лишь при интоксикациях вполне конкретными веществами.

Используемые в практике оказания помощи отравленным препараты могут быть отнесены к одной из следующих групп:

А) Ускоряющие детоксикацию:

- тиосульфат натрия - применяется при отравлениях цианидами;

- бензанал и другие индукторы микросомальных ферментов - могут быть рекомендованы в качестве средств профилактики поражения фосфорорганическими отравляющими веществами;

- ацетилцистеин и другие предшественники глутатиона - используются в качестве лечебных антидотов при отравлениях дихлорэтаном, некоторыми другими хлорированными углеводородами, ацетаминофеном.

Б) Ингибиторы метаболизма:

- этиловый спирт, 4-метилпиразол - антидоты метанола этиленгликоля.

Поскольку любой антидот это такое же химическое вещество, как и токсикант, против которого его применяют, как правило, не обладающее полным антагонизмом с токсикантом, несвоевременное введение, неверная доза противоядия и некорректная схема могут самым пагубным образом сказаться на состоянии пострадавшего. Попытки корректировать рекомендуемые

способы применения антидотов ориентируясь на состояние пострадавшего у его постели допустимы только для высококвалифицированного специалиста, имеющего большой опыт использования конкретного противоядия. Наиболее частая ошибка, связанная с применением антидотов, обусловлена попыткой усилить их эффективность, повышая вводимую дозу. Такой подход возможен лишь при применении некоторых физиологических антагонистов, но и здесь имеются жесткие ограничения, лимитируемые переносимостью препарата. В реальных условиях, как и для многих других этиотропных препаратов, схема применения антидотов предварительно отрабатывается в эксперименте, и лишь затем рекомендуется практическому здравоохранению. Отработка правильной схемы применения препарата является важнейшим элементом разработки и выбора эффективного противоядия. Поскольку некоторые виды интоксикации встречаются нечасто, порой проходит продолжительное время перед тем, как в условиях клиники удастся окончательно сформировать оптимальную стратегию использования средства.

Лекарственные формы и схемы применения основных противоядий представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Лекарственные формы и схемы применения некоторых противоядий

Антидоты	Лекарственная форма. Средства применения
Амилнитрит, Пропилнитрит	Ампулы по 0,5 мл для ингаляции. Отравление цианидами
Антициан	Ампулы по 1,0 мл 20 % раствора; внутривенно по 0,75 мл внутримышечно. Отравление цианидами

Десфериоксамин (десферал)	Порошок 500 мг во флаконе для приготовления раствора для инъекций. При тяжелом отравлении солями железа вводят 15 мг/кг/ч внутривенно
Дигоксин- специфичные FАВ- антитела	Порошок во флаконах. Содержимое одного флакона связывает 0.6 мг дигоксина.
Дикоболтовая соль ЭДТА	Ампулы по 20 мл 1,5 % раствора внутривенно, капельно медленно. Отравление цианидами
Натрия нитрит	Ампулы по 10 - 20 мл 2 % раствора, внутривенно, капельно. Отравление цианидами
Натрия тиосульфат	Ампулы по 10 - 20 мл 30 % раствора, внутривенно. Отравления цианидами, соединениями ртути, мышьяка, метгемоглобинообразователями
Пенициламин	Капсулы по 125 - 250 мг, таблетки по 250 мг. Вводить по 1 г в сутки, разделив на 4 дозы. Внутрь перед едой. Интоксикации свинцом, мышьяком
Этанол	Начальная доза рассчитывается на достижение уровня этанола в крови не менее 100 мг/100 мл (42 г/70 кг) - в виде 30 % раствор внутрь по 50 - 100 мл; в виде 5 % раствора внутривенно. Отравления метанолом, этиленгликолем

3.2 Разработка новых антидотов

Поводом для создания эффективного противоядия является либо случайное обнаружение факта антагонизма веществ, либо целенаправленное и глубокое изучение механизмов действия токсиканта, особенностей его токсикокинетики и установление на этой основе возможности химической модификации токсичности. В любом случае, пока не найден относительно активный антагонист, процесс разработки антидотов идет сложно.

После выявления антагониста начинается планирование и проведение целенаправленных, порой длительных исследований по выбору из большого числа аналогов исходного вещества таких средств, которые в наибольшей степени соответствуют требованиям:

- высокая эффективность;
- хорошая переносимость;
- дешевизна.

Примером подобного подхода является разработка антидотов мышьяка и мышьякорганических соединений. Первым в ряду препаратов этой группы был димеркаптопропанол (БАЛ - британский антилюизит) вещество, разработанное группой Томпсона в годы 2-й Мировой войны в Великобритании. Вещество представляет собой жирорастворимый хелатирующий дитиол, достаточно токсичный, но активно связывающий мышьяк, входящий в структуру отравляющего вещества люизита. Введенные в практику позже 2,3-димеркаптосукцинат и димеркаптопропансульфоновая кислота также содержат в молекуле дисульфидные группы, однако они являются более растворимыми в воде (следовательно, более удобными для применения) и менее токсичными

соединениями. Сама идея использовать дитиолы в качестве ан-тидотов мышьяксодержащих веществ родилась из представлений о механизмах действия люизита, а именно его способности взаимодействовать с дисульфидными группами биологических молекул.

Задание

Ответить на тестовые вопросы:

1 Какие препараты могут быть отнесены к одной группе?

А) бензанал, ацетилцистеин, этиловый спирт;

Б) метилпиразол, ацетилцистеин, тиосульфат натрия;

В) бензанал, тиосульфат натрия, ацетилцистеин.

2 Каковы условия неверного введения антидота могут пагубным образом сказаться на состоянии пострадавшего?

А) несвоевременное введение, психическое состояние человека; Б) некорректная схема, несвоевременное введение;

В) повышенное артериальное давление у пострадавшего, неверная доза.

3 Какие антидоты имеют одинаковую лекарственную форму? а) дикоболтовая соль ЭДТА, антициан, амилнитрит; б) дикоболтовая соль ЭДТА, амилнитрит, этанол; в) пенициламин, натрия тиосульфат, антициан.

4 Какие требования предъявляются к новым антидотам? А) хорошая переносимость, дешевизна; Б) устойчивость к высоким температурам, высокая эффективность; В) скорость производства.

5 Какие действия противопоказаны при вводе антидота пострадавшему? А) постепенное введение; Б) повышать дозу;

В) проверка реакции организма на действие антидота.

4 Практическое занятие № 4. Методы расчетов средней эффективной дозы токсикантов

Среднесмертельную дозу вычисляют статистическими методами. Наиболее известны методы Беренса, Кербера, Першина, Беренса и Шлоссера, метод наименьших квадратов, методы пробит-анализа Миллера и Тейтнера, Лигчфилда и Уилкоксона, метод Штабского и некоторые другие.

При выявлении эффективной дозы какого-либо вещества, вызывающего конкретный эффект, находят не одно определенное значение, а ряд значений, которые образуют вариационный ряд его индивидуальных эффективных доз. Распределение частот индивидуальных эффективных доз в этом вариационном ряду обычно приближается к нормальному распределению.

В условиях нормального распределения вариационный ряд может быть полностью определен средней арифметической варьирующего признака (в данном случае — доза) и величиной стандартного отклонения (σ), соот-

ветствующего стандартной ошибке средней арифметической (σ) из индивидуальных минимальных эффективных доз. Найти ее можно, используя известную формулу:

$$\sigma = \frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}, \quad (1)$$



где x - значение отдельного наблюдения;

\bar{x} - средняя арифметическая вариационного ряда;

n - число наблюдений.

Другой путь определения средней эффективной дозы вытекает из особенностей кривой нормального распределения. Площадь над осью абсцисс,

ограниченная этой кривой, выражает общее количество животных, у которых наблюдалась изучаемая реакция.

Так как кривая нормального распределения симметрична, то перпендикуляр, восстановленный из точки x , соответствующей средней эффективной дозе, разделит всю площадь, ограниченную кривой, на две равные части. Следовательно, средняя эффективная доза вместе с тем является той дозой, которая вызывает изучаемый эффект у 50 % подопытных животных.

Итак, вместо того, чтобы на очень большом количестве животных определять эффективные дозы и из них вычислять среднюю арифметическую, можно избрать более простой путь — искать ту дозу, которая вызывает изучаемый эффект у 50 % подопытных животных.

Если изучать на животных действие последовательно возрастающих доз исследуемого вещества, разделив для этого животных на ряд групп и испытывая на каждой группе какую-либо одну дозу, то окажется, что учитываемая реакция проявляется лишь начиная с какой-то определенной дозы, частота возникновения этой реакции будет нарастать и, наконец, при какой-то величине дозы эта реакция наступит у всех животных данной группы. Зависимость между величиной дозы и

частотой возникновения реакции можно изобразить графически. Для этого по оси абсцисс следует отложить дозы, а по оси ординат — частоту возникновения учитываемого эффекта к числу жи-вотных, на которых данную дозу испытали.

При этом зависимость между дозой и частотой наступления реакции будет представлена симметричной S-образной кривой, которую обычно назы-вают кумулятой или характеристической кривой. На этой кривой средняя эффективная доза соответствует значению абсциссы для той части кривой, ордината которой равна 50 %.

Характеристическая кривая имеет исключительно большое значение для количественной оценки фармакологической активности. По существу, все методы количественного определения активности сводятся к построению характеристической кривой или эквивалентной ей прямой на основании дан-ных, полученных в результате эксперимента, и к последующему их анализу.

4.1 Метод Беренса

Метод вычисления LD_{50} по Беренсу основывается на том положении, что общее количество животных, погибших от доз, меньших LD_{50} , равно об-щему количеству животных, выживших от доз, больших LD_{50} . Для обработки экспериментального материала по методу Беренса необходимо, чтобы интер-вал между испытываемыми дозами был одинаков и чтобы для испытания каждой из доз было использовано одинаковое количество животных. Для вы-равнивания экспериментальной характеристической кривой Беренс предло-жил прием так называемого накопления частот. Этот прием заключается в

том, что к числу животных, погибших от каждой из испытанных доз, прибав-ляется количество животных, погибших от всех меньших

испытанных доз, а к числу животных, выживших от каждой из испытанных доз, прибавляют количество животных, выживших от всех более высоких испытанных доз.

Логически этот прием вполне оправдан. Так, если данное животное погибло под влиянием какой-то дозы изучаемого вещества, то оно, несомненно, погибло бы, если бы это вещество было введено в более высокой дозе; наоборот, если данное животное осталось в живых после введения ему определенной дозы изучаемого вещества, то оно, бесспорно, выжило бы, если бы это вещество было ему введено в меньшей дозе.

На основании вычисленных накопленных частот подсчитывают смертность от каждой из испытанных доз в процентах и строят характеристическую кривую, откладывая по оси абсцисс испытанные дозы, а по оси ординат — проценты смертельных исходов. Величина LD_{50} может быть найдена непосредственно из графика. Для этого из той точки характеристической кривой, которой соответствует 50 % смертельных исходов, опускают перпендикуляр на ось абсцисс; величине LD_{50} соответствует точка пересечения этого перпендикуляра с осью абсцисс.

Близкую по значению величину LD_{50} можно получить и без построения графика. Так как в средней части характеристической кривой небольшой ее отрезок мало отличается от прямой линии, то величину LD_{50} можно вычислить путем прямолинейного интерполирования между ближайшими к LD_{50} меньшей и большей дозами.

Если интервал между испытанными дозами равен d , а величина LD_{50} находится между A и B , из которых доза A вызвала a % смертельных исходов ($a < 50$) и доза B — b % смертельных исходов. Если ($b > 50$), то:

$$LD_{50} = A + \frac{(50 + a) \cdot d}{b - a} \quad (2)$$

Практическое использование метода Беренса можно проиллюстрировать на примере обработки экспериментального материала по изучению токсичности тубазида, подробно описанного М. Л. Беленьким (1963).

Процесс обработки представлен в таблице 7.

Таблица 7 - Обработка материалов по установлению токсичности тубазида по методу Беренса

Доза, мг/кг	Фактический результат	Накопленные частоты	Смертность, %
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

В первой колонке таблицы указаны испытанные дозы изучаемого вещества, во второй — фактический результат (в числителе — число погибших животных, в знаменателе — выживших), в третьей — результат накопления частот и в четвертой колонке — процент смертельных исходов, рассчитанный на основании данных третьей колонки. «Накопление частот» происходит следующим образом. Для дозы 150

мг/кг, от которой фактически выжило 8 животных, записываем результат: погибло 0 животных, выжило $8 + 7 + 4 + 2 + 1$

= 22 животных, то есть прибавляем к числу фактически выживших животных число животных, которые выжили от более высоких доз. Для дозы 160 мг/кг, от которой в эксперименте 1 животное погибло и выжило 7: погибло 1 жи-вотное, выжило $7 + 4 + 2 + 1 = 14$ животных. Для дозы 170 мг/кг, от которой погибло в эксперименте 4 животных: погибло $4 + 1 = 5$ животных, т. е. при-бавляем одно животное, погибшее от меньшей дозы, выжило $4 + 2 + 1 = 7$ и

так далее. На основании вычисленных по накопленным частотам процентов смертельных исходов строим характеристическую кривую. Из этой кривой находим, что интересующая нас величина LD_{50} равна 172,3 мг/кг.

Как уже указывалось ранее, величину LD_{50} можно определить, не при-бегая к построению графика, непосредственно из данных, находящихся в 1-й

и 4-й колонках расчетной таблицы, по указанной ранее формуле. В нашем случае $d = 10$, $A = 170$ мг/кг, $B = 180$ мг/кг, $a = 41,7$ %, $b = 78,6$ %.

4.2 Метод Кербера

$LD_{50/30}$ при однократном воздействии химических веществ определяют по методу Кербера.

Крысам вводят разные дозы химического вещества с интервалом 1 г., вызывающими гибель от 0 % до 100 % животных. Срок гибели животных фиксируют в течение 30-и дней. На каждую дозу химического вещества бе-рут 10 крыс.

LD_{50} высчитывают по формуле Кербера:

$$LD_{50} = LD_{100} - \sum(Zd) / m, \quad (3)$$

где LD_{100} – доза химического вещества, которая вызывала 100 % гибель экспериментальных животных в течение срока наблюдений;

d – интервал между каждыми двумя смежными дозами;

Z – среднее арифметическое из числа погибших животных под влиянием каждых двух смежных доз;

m – число животных в каждой группе.

Введение химического вещества осуществлялось в разных дозах с интервалом 1 г. Дозы до 6 г. не вызывали гибель животных, однако доза 7 г. вы-

зывала гибель 2 животных. Количество крыс погибших на каждую последующую дозу увеличивалось. Так, доза 12 г. вызывала 100 % гибель животных.

Результаты, обработанные по формуле Кербера: $m = 10$;

$$\sum(Zd) = 1+3+4,5+5,5+6,5+8,5 = 29$$

$$LD_{100/30} = 12 \text{ г.}$$

$$LD_{50/30} = 12 - 29/10 = 9,1 \text{ г.}$$

Полученные данные показали, что $LD_{50/30}$ при однократном введении крысам химического вещества составляет 9,1 г.

Задание

Рассчитать значение среднеэффективной дозы, используя данные таблицы LD_{50} по методу Беренса и Кербера, используя данные таблицы Г.1-Г.2 приложения Г. Сравнить результаты, выделить преимущества точности методов.

5 Практическая работа №5. Процесс оценки рисков воздействия токсикантов

Из-за большого разнообразия условий и свойств токсикантов невозможно создать единый сценарий, позволяющий оценивать риск всех химических веществ во всех возможных ситуациях. Существует методология по-этапного решения задачи, в соответствии с которой можно провести полный анализ различных случаев. Она представлена на рисунке 5 и включает четыре элемента:

- а) идентификация опасности;
- б) оценка воздействия;
- в) оценка токсичности;
- г) характеристика риска.

Каждый из этих элементов имеет непосредственное отношение к важнейшим характеристикам, определяющим риск от воздействия токсикантов.

Идентификация опасности. В ходе этого этапа определяют, какие вещества оказывают воздействие на организм, пути их поступления в окружающую среду, обладают ли они потенциальной способностью вызывать неблагоприятные эффекты в организме (в том числе канцерогенное, мутагенное и иные), изменять среду обитания.

Все доступные данные по токсикантам собираются, систематизируются

и используются для оценки токсического потенциала веществ. Если в среде присутствует большое количество токсикантов возможно выбрать для анализа некое вещество-индикатор загрязненности.

Оценка воздействия. Оценка воздействия - этап, на котором количественно определяют дозу токсиканта, действующую на организм в конкретной анализируемой ситуации (экспозиционная доза). При этом изучают данные определения содержания вещества в воздухе, воде, почве, пищевых продуктах, элементах биоты. При оценке воздействия определяют популяцию лиц, подвергающихся агрессии, а также частоту, продолжительность действия токсиканта, способ воздействия на организм.

В ходе работы желательно выявить часть населения с повышенной чувствительностью к ксенобиотику. Необходимо тщательно проанализировать пути поступления токсиканта в организм.

Третий этап исследования состоит в *установлении зависимости "доза-эффект"* для изучаемых веществ. Конечная цель этого этапа работы заключается в установлении уровня доз, при которых появляются неблагоприятные эффекты от действия токсиканта на организм. Если эти характеристики уже найдены, но не утверждены законодательно, исследования могут быть продолжены в требуемом объеме. Если данных

нет, можно попытаться получить ориентировочные значения токсичности веществ, прибегая даже к расчетным методам. Наконец, рекомендуемая доза может быть определена путем деления установленной в иных исследованиях пороговой дозы на фактор безопасности.

Характеристика риска. На этом этапе обобщается вся информация, использованная и полученная на предыдущих этапах. Итоговый документ по оценке риска составляется в зависимости от цели исследования. Рассчитываются, в случае возможности, количественные характеристики риска, в частности индекс опасности. Часто бывает необходимо указать на неопределенный характер отдельных параметров и так далее.

Если вещество проявляет свойства канцерогена в документе должно быть представлено значение риска развития новообразований в конкретных условиях, т.е. указано, какое количество дополнительных случаев новообразований возникнет в популяции, на которую действует (или действовал) токсикант, в сравнении с контрольной группой.

Существует четыре основных источника появления неопределенности в методологии оценки риска:

- влияние свойств и особенностей окружающей среды на эффекты, вызываемые токсикантами;
- допущения в процессе установления зависимости "доза-эффект";
- допущения при определении токсикокинетических параметров ксено-биотика;
- неопределенность, обусловленная переходами от одного этапа исследования к другому.

Для правильного отношения к результатам исследования необходимо иметь представление о причинах и механизмах появления неопределенности

в процессе оценки риска.

Контрольные вопросы

1 Распишите основной алгоритм оценки риска воздействия токсикантов.

2 Что включает в себя оценка воздействия токсиканта?

3 Выделите основные причины оценки рисков воздействия токсиканта.

4 Какие существуют неопределенности в методологии рисков?

Обоснуйте свои варианты ответов.

6 Практическое занятие № 6. Оценочные критерии экологического риска воздействия токсикантов на окружающую среду

Последовательность выведения оценочных критериев экологического риска воздействия токсикантов на окружающую среду следующая.

Первый этап — качественная оценка и идентификация неблагоприятных факторов окружающей среды, включая факторы риска в про-мышленности.

Второй этап — количественная оценка риска превышения предельно допустимых концентраций загрязняющих веществ в условиях конкретных производств.

Токсикология окружающей среды основана в значительной степени на предположении о том, что токсичность встречающихся в окружающей среде загрязняющих веществ с низкими уровнями концентрации прямо пропорциональна этой концентрации. Предполагается также, что чем больше продолжительность контакта вещества с биологическим объектом, тем больше вероятность токсических эффектов. На основании этого делается вывод о том, что для установления токсичности того или иного загрязняющего окружающую среду вещества нужно знать его концентрацию (дозу), попавшую в организм за счет дыхания, питьевой воды, пищи или другим путем, и время его нахождения в организме.

Система расчета риска предполагает использование следующего уравнения:

$$R = \left[1 - \exp(-UR \times C) \right], \quad (4)$$

где R - риск возникновения неблагоприятного эффекта, определяемый как вероятность (в долях единицы) возникновения этого эффекта при заданных условиях;

C - реальная концентрация (или доза) вещества, оказывающая воздействие, мг/м³ ;

UR - единица риска, определяемая как фактор (коэффициент) пропорции роста риска в зависимости от значения действующей концентрации (дозы).

В основу методологии расчета риска взята информация о значениях пороговых концентраций, которые определяются в ходе

экспериментальных исследований, имеющих целью разработку регламентов предельного содержания вредных веществ в объектах окружающей среды. При этом заметим, что в ходе экспериментальных исследований, имеющих целью разработку регламентов предельного содержания вредных веществ в объектах окружающей среды, в качестве пороговых концентраций принимаются минимальные из них, вызывающие эффект токсического действия с вероятностью не менее чем 16 %.

Пороговые концентрации $C_{пор}$ связаны с максимальными недействующими (ПДК) следующим уравнением:

$$\text{ПДК} = C_{пор} / K_3, \quad (5)$$

где K_3 — коэффициент запаса, зависящий от класса опасности вещества.

В случае регламентирования содержания примесей в атмосферном воздухе населенных мест, K_3 определяется для веществ:

1-го класса опасности на уровне (как минимум) 7,5;

2-го класса — на уровне 6;

3-го класса — на уровне 4,5;

4-го класса — на уровне 3.

При принятии этого допущения формула (4) приобретает вид:

$$R = 1 - \exp\left(-\frac{\ln 0,84}{C} \cdot C\right) \quad (6)$$

(ПДК × К)

Третий этап — анализ результатов, полученных на первом и втором этапах алгоритма, и уточнение изучаемых характеристик экологического риска.

Для предупреждения развития немедленных токсических эффектов разрабатываются максимальные разовые ПДК (ПДК_{мр}), которые предназначены для регламентирования максимальных уровней приземных концентраций загрязняющих веществ.

Вероятность токсического воздействия вещества P_{rob} при оценке кратности превышения ПДК_{мр} определяется в соответствии с классом опасности:

$$1 - \text{й: } P_{rob} = -9,15 + 11,66 \lg(C/\text{ПДК}_{\text{мр}}), \quad (7)$$

$$2 - \text{й: } P_{rob} = 5,51 + 7,49 \lg(C/\text{ПДК}_{\text{мр}}), \quad (8)$$

$$3 - \text{й: } P_{rob} = 2,35 + 3,73 \lg(C/\text{ПДК}_{\text{мр}}), \quad (9)$$

$$4 - \text{й: } P_{rob} = 2,35 + 3,73 \lg(C/\text{ПДК}_{\text{мр}}). \quad (10)$$

При этом пересчет P_{rob} в величину риска R осуществляется в соответствии с уравнением нормального вероятностного распределения либо с помощью соответствующих компьютерных программ.

Расчет риска загрязнения атмосферы при различных концентрациях токсиканта в воздухе на примере ацетона

Ацетон (диметилкетон, пропанон CH_3COCH_3) — бесцветная, летучая, воспламеняющаяся жидкость. Неочищенный ацетон может содержать приме-си органических кислот, альдегидов и других веществ. Раздражает слизистые оболочки, угнетает центральную нервную систему. Высокие концентрации паров ацетона приводят к раздражению слизистых оболочек глаз и верхних дыхательных путей, к головной боли, возможны обморочные состояния, наркоз, кома. Прием внутрь токсических доз вызывает раздражение желудоч-но-кишечного тракта, наркоз, повреждение печени и почек.

Ацетон характеризуется следующими параметрами: ПДК = 0,35 мг/м³, Кз по четвертому классу опасности 3.

Проведем расчет риска для данного загрязнителя:

$$R = 1 - e^{-\frac{\ln 0,84 \times C}{\text{ПДК} \times \text{Кз}}} = 1 - e^{-\frac{\ln 0,84 \times C}{1,05}} = 1 - e^{-0,166 \times C}. \quad (11)$$

1 При $C=0,35$ мг/м³:

$$R = 1 - e^{-0,166 \times C} = 1 - e^{-0,166 \times 0,35} = 1 - 0,94355 = 0,0564.$$

2 При $C=0,1$ мг/м³:

$$R = 1 - e^{-0,166 \times C} = 1 - e^{-0,166 \times 0,1} = 1 - 0,9835 = 0,0165.$$

Для веществ 4-го класса опасности, к которому относится ацетон (ПДК_{мр} = 0,35 мг/м³), вероятность эффекта (R), выраженная в пробитах, P_{rob} .

— рассчитывается в соответствии с формулой 12:

$$P_{rob} = -1,41 + 2,33 \lg \left(C / \text{ПДК}_{мр} \right) = -1,41 + 2,33 \lg (C / 0,35). \quad (12)$$

- При $C = 0,35$ мг/м³:

$$P_{rob} = -1,41 + 2,33 \lg (C / 0,35) = -1,41 + 2,33 \lg (0,35 / 0,35) = -0,41.$$

- При $C = 0,1$ мг/м³:

$$P_{rob} = -1,41 + 2,331g(C / 0,35) = -1,41 + 2,331g(0,1 / 0,35) = -2,677 .$$

Результаты перевода значений P_{rob} в величины R представлены в таблице 8.

це 8.

Таблица 8 - Соответствие концентрации ацетона величинам риска и вероятности токсического воздействия

Ацетон		
C	P_{rob}	R
0,1	-2,677	0,003714
0,35	-1,41	0,07927
0,5	-1,049	0,147089
ПДК=0,35 мг/м ³ , четвертый класс опасности		

Задание

1 Провести расчет риска загрязнения атмосферы токсикантами в зависимости от различных концентраций веществ, приведенных в таблице 9

Таблица 9 - Исходные данные для расчета риска воздействия токсикан-

ТОВ

№ варианта	Вещества	ПДК мг/	Класс опасности
------------	----------	---------	-----------------

		Вариант 1	Вариант 2	
1	Пыль	0,3	0,1	3
2	Диоксид серы	0,5	0,05	3
3	Диоксид азота	0,08	0,04	2
4	Окись углерода	5	3	4
5	Сероводород	0,03	0,005	2
6	Бутилацетат	0,1	0,05	3

2 Результаты расчета свести в таблицу 10.

Таблица 10 - Соответствие концентрации загрязняющего вещества величинам риска и вероятности токсического воздействия

Наименование вещества		
C	P _{гob}	R

_____ ПДК, мг/м³, класс опасности _____

3 Построить графическую зависимость риска от различных уровней вещества в воздухе.

4 Сделать выводы.

7 Практическое занятие № 7. Метод оценки неканцерогенных рисков воздействия токсикантов

Риски для неканцерогенных эффектов характеризуются соотношением действующей дозы вредного экологического фактора и его референтной до-зы. Этот показатель называется «индивидуальное отношение экспозиции (IER):

$$IER = \frac{D}{D_p}, \quad (13)$$

где D – доза токсиканта;

D_p - референтная доза токсиканта.

IER показывает, насколько действующая доза токсичного вещества превосходит безопасный уровень, что соответственно коррелирует с вероят-ностью вредного воздействия. При расчете IER воздействующие и референт-ные дозы должны быть приведены к единым единицам измерения. При рас-чете дозы учитывается концентрация, выраженная в миллиграммах на литр питьевой воды, на грамм почвы или пищи, на кубический метр воздуха, а до-за имеет размерность миллиграммы на килограмм массы тела в день:

$$D = \frac{C_m \cdot P}{m}, \text{ (мг/кг)}, \quad (14)$$

где C_m - концентрация токсиканта; мг/м³

P – потребление воздуха человеком;

м³ m – масса тела человека, кг.

В соответствии с Руководством по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду, стандартные значения учитываемых факторов экспозиции (Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава РФ, 2004):

- потребление вдыхаемого воздуха (л/8 часов) для взрослого;
- средний вес человека 70 кг.

Пересчет стандартного объема вдыхаемого воздуха на 1 час составит для взрослых мужчины и женщины соответственно 450 и 362,5 литра или 0,45 и 0,3625 м³.

Итоговое представление информации о неканцерогенном риске предполагает составление обобщающей таблицы, в которой сводятся все результаты анализа неканцерогенных рисков, что будет полезно для последующего ранжирования рисков.

Согласно вышеуказанному Руководству по оценке риска для здоровья населения, при отсутствии референтной концентрации в качестве

ее эквивалента возможно применение предельно допустимых концентраций.

Учитывая, что для значительного количества загрязняющих веществ в Руководстве не отражены референтные концентрации и дозы, в дальнейшем в качестве их эквивалентов будут использованы предельно допустимые концентрации (ПДК), принимаемые в качестве безопасных.

Задание

1 Рассчитать риски для неканцерогенных эффектов по индивидуаль-ному отношению экспозиции и дозам соответствующих веществ. Исходные данные для расчетов приведены в таблице А.1 приложения А.

2 Результаты расчетов свести в таблицу А.2 приложения А.

3 Сделать выводы.

8 Практическое занятие № 8. Индексные методы идентификации риска загрязнения окружающей среды

Индексные методы идентификации риска (обычно риска заболеваемости, смертности) включают в себя методы прямого сопоставления уровней загрязнения сфер окружающей среды с пороговыми (допустимыми) концентрациями загрязнителей в этих сферах — предельно допустимыми концентрациями (ПДК). Исходя из принципов определения ПДК, превышение порога загрязнения обычно

рассматривается как существование угрозы повышения заболеваемости (смертности):

$$C_i > ПДК_i , \quad (15)$$

где C_i — уровень концентрации загрязнителя;

$ПДК_i$ — предельно допустимая концентрация загрязнителя в рассматриваемой сфере окружающей среды.

При идентификации риска заболеваемости в случае загрязнения атмосферы несколькими независимыми химическими веществами может быть использован агрегированный индекс загрязнения (I_3) атмосферы, рассчитываемый по следующей формуле:

$$I_3 = \sum_{i=1}^n \frac{C_i}{ПДК_i} \leq 1. \quad (16)$$

Отсутствие риска заболеваемости признается в следующих случаях:

$I_3 < 2$ при количестве загрязнителей $2 \leq n \leq 4$;

$I_3 < 3$ при количестве загрязнителей $5 \leq n \leq 9$;

в $I_3 < 4$ при количестве загрязнителей $10 \leq n \leq 20$;

в $I_3 < 5$, если $n > 20$.

Для химических веществ, обладающих эффектом суммации (аддитивным действием), величина индекса загрязнения не должна превышать 1:

$$I_3 = \sum_{i=1}^n \frac{C_i}{ПДК_i} \leq 1. \quad (17)$$

Индекс риска как одна из характеристик ранжирования химических веществ в идентификации опасности загрязнения окружающей среды.

Для неканцерогенных воздействий мерой для выражения заболеваемости (риска заболеть) является так называемый индекс риска. Его значение определяется как отношение усредненного (например, за ожидаемый период жизни) уровня воздействия (усредненной дозы — E или I) и пороговой или референтной дозы (RfD). Эти характеристики выражаются в одинаковых единицах за один и тот же период, то есть как хронические — от 7 до 70 лет, субхронические (subchronic) — от 2 недель до 7 лет или как разовые (shorter-term) — до 2 недель.

Индекс риска (hazard index — HI) рассчитывается согласно следующему выражению:

$$HI = \frac{E}{RfD}. \quad (18)$$

Смысловое содержание индекса риска состоит в следующем. $E > RfD$, то есть $HI > 1$, то при сохранении существующего уровня воздействия могут существовать неканцерогенные эффекты, то есть заболеваемость (не связанная с раком) населения может превысить средний уровень. Как правило, чем

больше значение HI (при $HI > 1$), тем больший уровень заболеваемости можно ожидать. Но здесь следует иметь в виду, что HI нельзя интерпретировать как статистическую или вероятностную характеристику. Иными словами, значение $HI = 0,01$ не означает, что существует один шанс из 100 заболеть. Аналогично теория риска не связывает при $HI > 1$ уровень заболеваемости с величиной этого показателя.

Таким образом, значение HI можно рассматривать в качестве ранжированной (порядковой) характеристики ожидаемой заболеваемости.

Для оценок дозы химического вещества, попавшего в организм человека при дыхании в загрязненном воздухе, используется следующее выражение:

$$I = \frac{P_B \times IR \times ET}{BW}, \quad (19)$$

где P - средняя концентрация загрязнителя в воздухе, мг/м^3 ;

B

IR - объем вдыхаемого воздуха в течении часа, $\text{м}^3/\text{ч}$;

ET - продолжительность контакта, ч;

BW - вес тела (кг).

Стандартные значения учитываемых факторов экспозиции:

в объем вдыхаемого воздуха (л /8 часов) для взрослого мужчины 3600, для взрослой женщины 2900;

в средний вес человека 70 кг.

Пересчет стандартного объема вдыхаемого воздуха на 1 час составит для взрослых мужчины и женщины 450 и 362,5 литра или 0,45 и 0,3625 м^3 .

Указанные стандартные значения учитываемых факторов экспозиции взяты из вышеупомянутого Руководства по оценке риска.

Преобразуем формулы расчета доз химических веществ, попавших в организм человека при дыхании в загрязненном воздухе со следующими продолжительностями контакта:

ихронические воздействия — 30 лет ($30 \times 365 \times 24 \text{ ч} = 262800 \text{ ч}$),

исубхронические воздействия (subchronic) — 3 года ($3 \times 365 \times 24 \text{ ч} = 26280 \text{ ч}$);

кратковременные воздействия (shorter-term) - 3 дня ($3 \times 24 \text{ ч} = 72 \text{ ч}$).

Величины доз (I), попавших в организм человека при дыхании в загрязненном воздухе с различными продолжительностями контакта, необходимы для расчета индекса риска (II).

Задание

Рассчитать дозу химического вещества, попавшего в организм человека при дыхании в загрязненном воздухе при различных действиях по исходным данным, приведенным в приложении В (таблица В.1).

9 Лабораторная работа № 9. Определение концентраций аммиака в воде при помощи реактива Несслера

9.1 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы, материалы

9.1.1 Средства измерений, вспомогательные
устройства Для работы необходимы следующие
устройства:

фотометр или спектрофотометр любого типа, обеспечивающий измерение оптической плотности в диапазоне длин волн от 400 до 500 нм (КФК-3, КФК-2, СФ-46, СФ- 56 и др.);

весы лабораторные высокого (II) класса точности по ГОСТ 24104-2001;

весы лабораторные среднего (III) класса точности по ГОСТ 24104-2001. рН-метр или иономер любого типа (рН-150, рН-155, Эко-тест-2000, Анион-10

3 другие) с комплектом электродов для измерения рН;

колбы мерные 2-го класса точности исполнения 2, 2а по ГОСТ 1770-74 вместимостью: 50 см³ - 7 шт.; 100 см³ - 3 шт.; 500 см³ - 1 шт.;

пипетки градуированные 2-го класса точности исполнения 1, 2 по ГОСТ

пипетки с одной отметкой 2-го класса точности исполнения 2 по ГОСТ

29169-91 вместимостью: 5 см³ - 2 шт.; 10 см³ - 2 шт.; 20 см³ - 1 шт.; 25 см³ - 1 шт.;

цилиндры мерные исполнения 1, 3 по ГОСТ 1770-74 вместимостью:
25

см³ - 1 шт.; 50 см³ - 3 шт.; 100 см³ - 2 шт.; 250 см³ - 1 шт.; 1000 см³ - 1 шт.;

колбы конические или плоскодонные Кн или П, исполнения 1 или 2,
ХС

по ГОСТ 25336-82 вместимостью: 100 см³ - 7 шт.; 500 см³ - 1 шт.

Воронка лабораторная тип В, диаметр 36 мм по ГОСТ 25336-82 - 1 шт.
установка для отгонки аммиака (колбы круглодонные термостойкие
вме-

стимостью 250 см³, каплеуловители с отводом, холодильники с прямой труб-кой и колбы плоскодонные вместимостью 100 см³, алонж) по ГОСТ 25336-82

- 2 шт.;

 стаканы тип В, исполнения 1, ТХС по ГОСТ 25336-82 вместимостью:
 100 см³ - 3 шт.; 250 см³ - 2 шт.; 1000 см³ - 1 шт.;

 стаканчики для взвешивания (бюксы) СВ-19/9, СВ-24/10, СВ-34/12 по ГОСТ 25336-82 - 3 шт.;

 стаканчик для взвешивания (бюкс) СН-60/14 по ГОСТ 25336-82 - 1 шт.;

 колонка стеклянная с краном и пористой пластиной высотой 50 - 60 см,
 диаметром 2 - 4 см или бюретка с прямым краном вместимостью 50 см³ по ГОСТ 29251- 91 с прокладкой из стеклоткани или стекловаты - 1 шт.;

 эксикатор исполнения 2, диаметром корпуса 190 мм по ГОСТ 25336-82 - 1 шт.;

 посуда стеклянная (в том числе темного стекла) для хранения проб и рас-творов вместимостью 0,1; 0,25; 0,5 и 1,0 дм.;

 посуда полиэтиленовая (полипропиленовая) для хранения проб и растворов вместимостью 0,1; 0,25; 0,5; 1,0 дм.;

 палочка стеклянная;

 шпатель;

 устройство для фильтрования проб с использованием мембранных или бумажных фильтров;

 шкаф сушильный общелабораторного назначения;

 плитки электрические с закрытой спиралью и регулируемой мощностью нагрева по ГОСТ 14919-83 или колбонагреватели;

9.1.2 Реактивы и материалы

Для работы необходимы следующие реактивы:

и хлорид аммония NH_4Cl по ГОСТ 3773-72, х.ч. (при отсутствии ГСО);

и реактив Несслера (калий тетраиодомеркурат в щелочном растворе)

$\text{K}_2[\text{HgI}_4]$ КОН (NaOH) по ТУ 6-09-2089-77, ч.д.а., или калий йодистый (KI)

по ГОСТ 4232-74, ч.д.а., и ртуть (II) иодид HgI_2 по ТУ 6-09-02-374-85, ч.;

- калий-натрий виннокислый 4-водный $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
(сегнетова

соль, тартрат калия-натрия) по ГОСТ 5845-79, ч.д.а.;

▣ калий фосфорнокислый однозамещенный (дигидрофосфат калия) KH_2PO_4 по ГОСТ 4198-75, ч.д.а., или натрий фосфорнокислый однозамещен-

ный 2-водный (дигидрофосфат натрия) $\text{NaH}_2\text{PPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ по ГОСТ 245-76, ч.д.а.;

- калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный (гидрофосфат калия) $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ по ГОСТ 2493-75, ч.д.а., или натрий фосфорнокислый двузамещенный (гидрофосфат натрия) Na_2HPO_4 по ГОСТ 11773-76, ч.д.а.;

к натрия гидроокись (гидроксид натрия) по ГОСТ 4328-77, ч.д.а.;

к серная кислота H_2SO_4 по ГОСТ 4204-77, ч.д.а.;

к соляная кислота HCl по ГОСТ 3118-77, ч.д.а.;

к натрий серноватисто-кислый 5-водный (тиосульфат натрия) по ГОСТ 27068-86, ч.д.а.;

Вцинк сернокислый 7-водный (сульфат цинка) $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ по ГОСТ 4174-77, ч.д.а., или цинк хлористый (хлорид цинка) ZnCl_2 по ГОСТ 4529-78,

ч.д.а.;

к натрий хлористый (хлорид натрия) по ГОСТ 4233-77, ч.д.а.;

к катионит сильнокислотный КУ- 2 - 8- чС по ГОСТ 20298-74 или дру-гой, равноценный по характеристикам;

к вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72;

к вода безаммиачная (п. 10.1.14);

к фильтры бумажные обеззоленные «белая лента» по ТУ 6-09-1678-86;

к фильтры мембранные «Владипор МФАС-ОС-2», 0,45 мкм, по ТУ 6-55-221-1-29-89 или другого типа, равноценные по характеристикам, или фильтры бумажные обеззоленные «синяя лента» по ТУ 6-09-1678-86;

к универсальная индикаторная бумага по ТУ 6-09-1181-76.

9.2 Метод измерения

Выполнение измерений массовой концентрации аммонийного азота ос-новано на взаимодействии аммиака в щелочном растворе с раствором тет-раиодмеркурата калия. В результате образуется иодид меркураммония $NH_2Hg_2I_3$, окрашивающий раствор в цвет от желтого до красно-бурого в за-висимости от концентрации аммонийного азота. Спектр поглощения полу-ченного соединения не имеет выраженного максимума, поэтому измерение оптической плотности можно проводить в диапазоне длин волн от 400 до 440 нм в зависимости от используемого варианта методики.

9.3 Требования безопасности, охраны окружающей среды

При выполнении измерений массовой концентрации аммонийного азо-та в пробах поверхностных вод суши и очищенных сточных вод соблюдают требования безопасности, установленные в национальных стандартах и соот-ветствующих нормативных документах. По степени воздействия на организм вредные вещества, используемые при выполнении измерений, относятся к 1, 2, 3 классам опасности по ГОСТ 12.1.007. Содержание используемых вред-ных веществ в воздухе рабочей

зоны не должно превышать установленных предельно допустимых концентраций в соответствии с ГОСТ 12.1.005.

Вредные вещества подлежат сбору и утилизации в соответствии с установленными правилами. Оператор, выполняющий измерения, должен быть проинструктирован о специфических мерах предосторожности при работе с солями ртути.

9.4 Отбор и хранение проб

Отбор проб для выполнения измерений массовой концентрации аммонийного азота производится в соответствии с ГОСТ 17.1.5.05 и ГОСТ Р 51592. Оборудование для отбора проб должно соответствовать ГОСТ 17.1.5.04 и ГОСТ Р 51592.

Пробы помещают в стеклянную или полиэтиленовую посуду с плотно закрывающейся пробкой. Если анализ не может быть произведен в день отбора пробы, ее консервируют прибавлением 1 см³ раствора серной кислоты 1:1 на 1 дм³ воды и хранят в холодильнике 3 - 4 дня. Для более длительного хранения необходимо замораживание пробы.

Перед выполнением измерений (консервацией) пробы фильтруют через мембранный фильтр 0,45 мкм, очищенный двукратным кипячением в безаммиачной воде. Чистые фильтры хранят в плотно закрытом бьюксе. Фильтрация проб следует проводить под давлением (продавливанием пробы через фильтр), поскольку при фильтрации под вакуумом возможны потери аммиака за счет улетучивания, особенно если рН пробы выше

При отсутствии мембранных фильтров или установок для фильтрации под давлением, допустимо использовать бумажные фильтры «синяя лента», промытые 1 %-ным раствором соляной кислоты,

а затем безаммиачной водой. При фильтровании через любой фильтр первые порции фильтрата следует отбросить.

9.5 Подготовка к выполнению измерений

9.5.1 Приготовление растворов и реактивов

Реактив Несслера (щелочной раствор тетраидмеркурата калия). Раствор готовят в том случае, когда отсутствует готовый реактив. Для этого 40 г KI и 57,5 г HgI₂ растворяют в 250 см³ дистиллированной воды, перемешивают, приливают 250 см³ раствора NaOH, 6 моль/дм³, и отстаивают в течение нескольких дней в темноте. Затем декантируют прозрачный раствор в темную склянку. Реактив устойчив длительное время, выпадение осадка не портит реактива.

Раствор сегнетовой соли (тартрата калия-натрия). Растворяют 50 г сегнетовой соли в 50 см³ дистиллированной воды при нагревании, фильтруют через бумажный фильтр «белая лента», добавляют 50 см³ 10 %-ного раствора NaOH и кипятят 30 мин для удаления следов аммиака; объем раствора доводят до 100 см³. Раствор устойчив при хранении в полиэтиленовой посуде.

Раствор гидроксида натрия, 10 %-ный. Растворяют 10 г NaOH в 90 см³ дистиллированной воды. Раствор хранят в полиэтиленовой посуде.

Раствор гидроксида натрия, 6 моль/дм³. Растворяют 60 г NaOH в 250 см³ дистиллированной воды. Раствор хранят в полиэтиленовой посуде.

Раствор гидроксида натрия, 1 моль/дм³. Растворяют 40 г NaOH в 1 дм³ дистиллированной воды. Раствор хранят в полиэтиленовой посуде.

Фосфатный буферный раствор, рН 7,4 - 7,6. В стакане вместимостью

1000 см растворяют 10 г KH_2PO_4 и 98 г $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ в 900 см безаммиачной воды. Доводят рН до 7,4 - 7,6 по рН-метру, добавляя KH_2PO_4 (при рН выше 7,6) или $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (при рН ниже 7,4), а затем кипятят раствор в течение 30 мин. После охлаждения буферный раствор разбавляют безаммиачной водой до 1,0 дм³ (после кипячения рН не корректируют). Хранят в холодильнике не более двух месяцев. При отсутствии калийных солей допустима замена их на эквивалентное количество натриевых солей.

Раствор тиосульфата натрия, 0,1 моль/дм³. Растворяют 2,5 г $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 100 см³ безаммиачной воды. Раствор хранят не более месяца.

Раствор соли цинка. Растворяют 21 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ или 10 г ZnCl_2 в 90 см³ безаммиачной воды. Раствор устойчив при хранении в герметично закрытой посуде.

Раствор серной кислоты, 0,1 моль/дм³. Приливают 1,4 см³ концентрированной серной кислоты к 250 см³ безаммиачной воды и перемешивают. Раствор устойчив при хранении в герметично закрытой посуде.

Раствор серной кислоты, 1:1. В стакан вместимостью 250 см³ помещают 50 см³ безаммиачной воды и при непрерывном перемешивании приливают к ней 50 см концентрированной серной кислоты. Хранят в плотно закрытой склянке.

Раствор соляной кислоты, 1 моль/дм³. Растворяют 84 см концентрированной соляной кислоты в 916 см дистиллированной воды. Раствор устойчив.

Раствор соляной кислоты, 1 %-ный. Смешивают 5 см³ соляной кислоты с 200 см³ безаммиачной воды. Используют для очистки фильтров.

Получение безаммиачной воды. Дистиллированную воду пропускают через колонку, заполненную сильнокислым катионитом в Н-форме, со скоростью 1 - 2 капли в секунду. Первые 100 - 150 см³ воды, прошедшей через колонку, отбрасывают. Хранят безаммиачную воду в плотно закрытой стеклянной посуде не более трех дней.

9.5.2 Приготовление градуировочных растворов

Градуировочные растворы готовят из ГСО с содержанием ионов аммония 1,00 мг/см³ (0,777 мг/см³ аммонийного азота).

Для приготовления градуировочного раствора № 1 вскрывают ампулу и

В содержимое переносят в сухую чистую пробирку. Отбирают 3,20 см³ образца с помощью чистой сухой градуированной пипетки вместимостью 5 см³

с переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³. Доводят объем в колбе до метки безаммиачной водой и перемешивают. Массовая концентрация ам-

монийного азота в градуировочном растворе № 1 составляет 24,9 мг/дм³ (если концентрация ионов аммония в ГСО не равна точно 1,00 мг/см³,

рассчитывают массовую концентрацию аммонийного азота в градуировочном растворе № 1 соответственно концентрации конкретного образца). Раствор хранят в герметично закрытой склянке в холодильнике не более двух недель.

Для приготовления градуировочного раствора № 2 пипеткой с одной отметкой отбирают $20,0 \text{ см}^3$ градуировочного раствора № 1, помещают его в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят до метки безаммиачной водой. Массовая концентрация аммонийного азота в градуировочном растворе

№ 2 составляет $4,98 \text{ мг/дм}^3$. Раствор хранят в герметично закрытой склянке в холодильнике не более трех дней.

При отсутствии ГСО допускается в качестве градуировочных растворов использовать аттестованные растворы аммонийного азота, приготовленные из хлорида аммония. Методика приготовления аттестованных растворов приведена в приложении Б.

9.6 Выполнение измерений

9.6.1 Выполнение измерений в диапазоне измерения концентраций аммонийного азота от $0,050$ до $0,300 \text{ мг/дм}^3$

Помещают 150 см^3 анализируемой воды в перегонную колбу, добавляют 30 см^3 фосфатного буферного раствора и кипяtilьные камешки. Соединяют элементы установки и отгоняют пробу в плоскодонную колбу-приемник вместимостью 100 см^3 , содержащую 5 см^3 раствора серной кислоты, $0,1 \text{ моль/дм}^3$, до объема примерно 90 см^3 (на

колбе должна быть сделана соответствующая метка). Если проба была законсервирована серной кисло-

63

той, ее следует предварительно нейтрализовать до рН 7 - 8 по универсальной индикаторной бумаге с помощью раствора NaOH, 6 моль/дм³.

При отгонке выходной отросток аллонжа (или холодильника при использовании вертикальной установки с каплеуловителем КО-14/23-100) должен быть погружен в раствор серной кислоты. При необходимости его можно удлинить с помощью стеклянной трубки, пристыкованной к аллонжу или холодильнику коротким отрезком резиновой трубки, или с помощью полипропиленовой (тефлоновой) трубки. По мере увеличения объема отгона колбу-приемник следует опускать, так, чтобы отросток аллонжа был погружен в жидкость на 1 - 1,5 см.

После отгонки пробу из колбы-приемника переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, промывают трубку холодильника и колбу-приемник небольшим количеством безаммиачной воды и присоединяют промывную воду к пробе. Доводят раствор в колбе до метки безаммиачной водой и перемешивают. Далее отбирают 50 см³ отгона в сухую коническую колбу вместимостью 100 см³, добавляют 1,0 см³ градуировочного раствора № 2, перемешивают, приливают 1 см раствора сегнетовой соли, перемешивают, затем добавляют 1 см³ реактива Несслера и опять хорошо перемешивают. Через 10 мин измеряют оптическую плотность раствора при длине волны 400 - 405 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 5 см относительно дистиллированной воды.

Перед анализом проб аналогичным образом выполняют измерения двух холостых проб, в качестве которых используют 150 см^3 безаммиачной воды. Среднее значение оптической плотности холостого опыта вычитают из оптической плотности проб.

64

9.6.2 Выполнение измерений в диапазоне измерения концентраций аммонийного азота от 0,3 до 4,0 мг/дм³ без отгонки

Отмеряют цилиндром 50 см^3 отфильтрованной анализируемой воды, помещают ее в сухую коническую колбу вместимостью 100 см^3 , приливают 1 см^3 раствора сегнетовой соли, перемешивают, затем добавляют 1 см^3 реактива Несслера и опять хорошо перемешивают. Через 10 мин измеряют оптическую плотность раствора при длине волны 440 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 2 см относительно дистиллированной воды.

Если анализируемая вода была законсервирована серной кислотой, после добавления раствора сегнетовой соли следует добавить 2 капли раствора NaOH 6 моль/дм³.

Одновременно с серией проб анализируемой воды проводят измерение оптической плотности холостой пробы, в качестве которой берут 50 см³ безаммиачной воды. Оптическую плотность холостой пробы вычитают из оптической плотности анализируемых проб.

Если массовая концентрация аммонийного азота в анализируемой воде превышает 4,0 мг/дм³, повторяют измерение, предварительно разбавив исходную пробу. Для этого отбирают пипеткой от 5 до 25 см³ анализируемой воды, помещают ее в мерную колбу вместимостью 50 см³, доводят до метки безаммиачной водой и перемешивают. Концентрация аммонийного азота в разбавленной пробе должна находиться в пределах от 1 до 4 мг/дм³.

9.6.3 Выполнение измерений в диапазоне измерения концентраций аммонийного азота от 0,3 до 4,0 мг/дм³ с отгонкой

Помещают 100 см³ анализируемой воды в перегонную колбу, добавляют 20 см³ фосфатного буферного раствора и кипяtilьные камешки. Соединяют элементы установки и отгоняют пробу в плоскодонную колбу-приемник вместимостью 100 см³, содержащую 5 см³ раствора серной кислоты, 0,1 моль/дм³, до объема примерно 90 см³ (на колбе должна быть сделана

65

соответствующая метка). Если проба была законсервирована серной кислотой, ее следует предварительно нейтрализовать до рН 7 - 8 по универсальной индикаторной бумаге с помощью раствора NaOH, 6 моль/дм³.

При отгонке выходной отросток аллонжа (или холодильника при использовании вертикальной установки с каплеуловителем КО-14/23-100) должен быть погружен в раствор серной кислоты. При необходимости его можно удлинить с помощью стеклянной трубки, пристыкованной к аллонжу или холодильнику коротким отрезком резиновой трубки, или с помощью полипропиленовой (тефлоновой) трубки. По мере увеличения объема отгона колбу-приемник следует опускать, так, чтобы отросток аллонжа бы погружен в жидкость на 1 - 1,5 см.

После отгонки пробу из колбы-приемника переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 , промывают трубку холодильника и колбу-приемник небольшим количеством безаммиачной воды и присоединяют промывную воду к пробе. Доводят раствор в колбе до метки безаммиачной водой и перемешивают. Далее отбирают 50 см^3 отгона в сухую коническую колбу, приливают 1 см^3 раствора сегнетовой соли, перемешивают, затем добавляют 1 см^3 реактива Несслера и опять хорошо перемешивают. Через 10 мин измеряют оптическую плотность раствора при длине волны 440 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 2 см относительно дистиллированной воды.

Холостой опыт выполняют аналогично, используя 100 см^3 безаммиачной воды.

9.7 Вычисление и оформление результатов измерений

Вычисляют значение оптической плотности A_x , соответствующее концентрации аммонийного азота в анализируемой пробе по формуле

$$A_x = A - A_1 - A_2, \quad (20)$$

66

где A - значение оптической плотности анализируемой пробы воды, полученное в ходе выполнения измерений;

A_1 - значение собственной оптической плотности пробы (при выполнении измерений без отгонки);

A_2 - значение оптической плотности холостой пробы.

По соответствующей градуировочной зависимости находят массовую концентрацию аммонийного азота X_{Γ} , мг/дм³, отвечающую полученному значению оптической плотности.

При выполнении измерений в диапазоне от 0,05 до 0,3 мг/дм включительно массовую концентрацию аммонийного азота в исходной пробе воды X , мг/дм³, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{X_{\Gamma} \cdot 100}{150}. \quad (21)$$

При выполнении измерений в диапазоне концентраций свыше 4,0 мг/дм массовую концентрацию аммонийного азота в исходной пробе воды X , мг/дм³, рассчитывают по формуле

$$X = X_{\Gamma} - \eta . \quad (22)$$

Результат измерений в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде

$$X \pm \Delta , \text{ мг}/(\text{P} = 0,95), \quad (23)$$

где $\pm\Delta$ - границы характеристики погрешности результатов измерений для данной массовой концентрации аммонийного азота, мг/дм³.

Численные значения результата измерения должны оканчиваться

67

цифрой того же разряда, что и значения характеристики погрешности.

Последние не должны содержать более двух значащих цифр.

Допустимо представлять результат в виде:

$$X \pm \Delta_{\mathcal{L}} (\text{P} = 0,95), \text{ при условии } \Delta_{\mathcal{L}} < \Delta , \quad (24)$$

где $\pm\Delta_L$ - границы характеристик погрешности результатов измерений, установленные при реализации методики в лаборатории и обеспечиваемые контролем стабильности результатов измерений, мг/дм³.

Массовую концентрацию свободного аммиака в пересчете на азот (далее - азота аммиака) рассчитывают, исходя из суммарного содержания аммонийного азота, температуры и рН воды с помощью таблицы 11. Для промежуточных значений рН и температуры мольную долю азота аммиака

находят методом линейной интерполяции. Приведенные в таблице 11 значения используют для расчета концентрации азота аммиака в диапазоне минерализации от 0 до 1,0 г/дм³. Если минерализация анализируемой пробы воды превышает 1 г/дм³, полученное значение массовой концентрации азота аммиака следует умножить на коэффициент 0,9.

Массовую концентрацию азота аммиака X_{NH_3} , мг/дм³, рассчитывают по формуле

$$X_{NH_3} = X \cdot D, \quad (25)$$

где D – мольная доля азота аммиака в общем содержании аммонийного азота.

Таблица 11 – Мольная доля азота аммиака в общем содержании аммонийного азота в воде в зависимости от рН и температуры при минерализации 0,5 г/ дм³

рН	Мольная доля азота аммиака при температуре, °С						
	0	5	10	15	20	25	30
6,5	0,0004	0,0006	0,0008	0,0010	0,0013	0,0016	0,0020
7,0	0,0013	0,0018	0,0024	0,0031	0,0040	0,0051	0,0064
7,5	0,0041	0,0056	0,0075	0,0098	0,0126	0,0160	0,0200
8,0	0,0130	0,0176	0,0233	0,0303	0,0388	0,0488	0,0605
8,2	0,0204	0,0275	0,0364	0,0472	0,0600	0,0751	0,0926
8,4	0,0320	0,0430	0,0565	0,0728	0,0920	0,114	0,139
8,6	0,0498	0,0665	0,0868	0,111	0,138	0,170	0,204
8,8	0,0768	0,102	0,131	0,165	0,203	0,245	0,289
9,0	0,116	0,152	0,193	0,238	0,287	0,339	0,392
9,2	0,172	0,221	0,274	0,331	0,390	0,448	0,505
9,4	0,248	0,310	0,375	0,440	0,503	0,563	0,618
9,6	0,344	0,416	0,487	0,544	0,616	0,671	0,719
9,8	0,454	0,531	0,602	0,664	0,718	0,764	0,803
10,0	0,568	0,641	0,705	0,758	0,801	0,837	0,866

10,5	0,806	0,850	0,883	0,908	0,927	0,942	0,953
11,0	0,929	0,947	0,960	0,969	0,976	0,981	0,985

Результат расчета массовой концентрации азота аммиака в докумен-тах, предусматривающих его использование, представляют в виде:

$$X_{NH_2} \pm \Delta_{NH_2}, \text{ мг/дм}^3 \quad (P = 0,95), \quad (26)$$

где $\pm \Delta_{NH_2}$ - границы характеристик погрешности расчета массовой концен-

69

трации азота аммиака, мг/дм^3 .

Погрешность расчета массовой концентрации азота аммиака, мг/дм^3 , находят по формуле

$$\Delta_{NH_2} = X_{NH_2} \cdot \sqrt{\left(\frac{\Delta}{X}\right)^2 + \delta_{pH}}, \quad (27)$$

где δ_{pH}^2 - погрешность расчета массовой концентрации азота аммиака, обусловленная погрешностью измерения рН; δ_{pH} принимает значения:

0,21 при рН от 6 до 8,2 включительно;

(1,1 - 0,11 рН) при рН от 8,3 до 10,0 включительно;

0,03 при рН свыше 10,0.

Результаты измерений оформляют протоколом или записью в журнале, по формам, приведенным в Руководстве по качеству лаборатории.

10 Лабораторная работа № 10. Определение хлорсодержащих соединений

Цель работы:

Научиться определять в различных пробах почв хлорсодержащие соединения, в том числе хлорсодержащие пестициды.

Принцип метода:

Метод основан на извлечении препарата из исследуемой пробы органическим растворителем (н-гексан). При помощи качественных реакций устанавливается наличие хлорорганических соединений и их последующее хроматографирование в тонком слое окиси алюминия. Подвижным растворителем служит н-гексан. Пятна определяемых препаратов обнаруживаются после опрыскивания пластинок раствором аммиака и серебра в ацетоне при облучении ультрафиолетовым светом.

Количественное определение проводят путем визуального сравнения или путем измерения площадей пятен проб и стандартных растворов.

Используемые материалы:

7 исследуемые образцы почвы; сито, с диаметром 0,5 - 1 мм.;

8 колба коническая с притертой пробкой, объемом 250 мл.;

9 встряхиватель; фарфоровая чашка; бумажные фильтры; медная проволочка; спиртовые горелки; пробирки;

10 бумага хроматографическая или пластины "Силуфол"; камера для хроматографии;

11 хроматоскоп;

12 н-гексан;

13 азотнокислое серебро 1 % раствор;

14 стандартные растворы искомых препаратов;

15 проявляющий раствор (раствор аммиака и серебра в ацетоне)

Ход работы:

Экстракция хлорорганических соединений из почвы.

Для анализа берут среднюю пробу почвы в количестве 50-100 г., предварительно высушенную на воздухе и просеянную через сито диаметром 0,5-1 мм.

Навеску почвы вносят в склянку с притертой пробкой и заливают н-гексаном так, чтобы слой почвы был полностью покрыт растворителем.

Почву с растворителем энергично встряхивают в течение 30 минут на аппарате встряхивания или вручную, после чего отфильтровывают через бу-мажный фильтр в фарфоровую чашку диаметром 10 см. Почву промывают 2-3 раза гексаном, собирая весь фильтрат в чашку.

Качественная реакция на хлорорганические соединения.

1 Прокалите медную проволоку в пламени горелки, затем погрузите в исследуемый раствор и снова поднесите в пламя. Если пламя окрашивается в зеленый цвет, то это свидетельствует о наличие хлорсодержащих соедине-ний.

2 В пробирку отберите 2 мл исследуемого фильтрата и добавьте 2-3 капли 1 %-ного раствора азотнокислого серебра, если выпадет белый осадок, то это свидетельствует о наличие хлорсодержащих соединений.

Количественное определение хлорорганические соединения. Оставшийся фильтрат выпарите на воздухе под вытяжным шкафом досуха. Далее высушенную пробу исследуйте для

идентификации хлорорганических соединений методом тонкослойной хроматографии.

Для этого перед началом анализа в высушенную пробу залейте 0,1 - 0,5 мл гексана и растворите высушенный осадок, получая рабочий раствор.

Хроматографирование.

На хроматографическую бумагу на расстоянии 1,5 см от края, при по-

мощи медицинского шприца или пастеровской пипетки, нанести исследуемую пробу в одну точку, так чтобы диаметр пятна не превышал 1 см.

Осадок с чашки с экстрактом 3 раза смыть небольшими (0,2 мл) порциями гексана, которые затем нанести на пластинку в центр первого пятна. Справа и слева от пробы на расстоянии 2 см нанесите стандартные растворы исследуемых препаратов, содержащие 1 и 10 мкг (0,001 и 0,01 мг) препарата. Пластинку с нанесенными растворами поместить в камеру для хроматографирования, на дно которой заранее был налит гексан, за 30 минут до начала хроматографирования. Край пластинки с нанесенными растворами может быть погружен в подвижный растворитель не более чем на 0,5 см.

После того как фронт растворителя поднимется на 10 см, пластинку выньте из камеры и оставьте на несколько минут для испарения растворителя. Далее пластинку опрыскивайте проявляющим раствором и в течение 10-

8 минут облучите УФ-лучами.

Пластинку следует располагать на расстоянии 20 см от источника света. При наличии хлорорганических пестицидов на пластинке проявляются пятна серо-черного цвета. Количественное определение производят путем сравнения размера пятна пробы с размером пятна стандартных растворов.

Расчет результатов:

Расчет анализа произвести по формуле:

$$A = \frac{X \cdot 1000}{B}, \quad (28)$$

где X - содержание хлорорганических пестицидов в анализируемой пробе, мг/кг;

9 - количество пестицида, найденное путем визуального сравнения пробы со стандартными растворами путем измерения площади пятен, мг;

B - массы навески, мг.

11 Практическое занятие № 11. Оценка агрегированного индекса загрязнения с выделением доли приоритетного загрязнителя и индекса экологического риска по фоновым концентрациям

Фоновые концентрации загрязнителей в воздухе в нашем примере рас-чета агрегированного индекса загрязнения (I_3) для индивидуальных химиче-ских веществ представлены в таблице 12.

Таблица 12 - Фоновые концентрации загрязняющих веществ в атмо-сферном воздухе

Примесь и суммация	Концентрация (мг/) при скорости ветра				
	0 – 2 м/с	3 –м/с в направлении			
	(штиль)	север	восток	юг	запад

пыль	0,12	0,11	0,12	0,12	0,12
SO ₂	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006
NO ₂	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
CO	3	3	3	3	3
фенол	0,003	0,002	0,002	0,002	0,002

Расчет агрегированного индекса загрязнения для индивидуальных химических веществ показан в таблице 13. Он показывает наличие некоторого риска заболеваемости в случае совместного загрязнения атмосферы пятью химическими веществами (таблица 13), образующими фоновые концентрации, так как нарушается условие $I_3 < 3$ при количестве загрязнителей $5 \leq n \leq 9$. Выявлено, что вклады соответствующих веществ в агрегированный индекс загрязнения можно ранжировать следующим образом (по степени их уменьшения): диоксид азота, пыль, окись углерода, фенол, диоксид серы.

Таблица 13 - Агрегированный индекс загрязнения для фоновых концентраций загрязняющих веществ

Наименование вещества	Индивидуальное отношение экспозиции при скорости ветра	
	0 – 2 м/с	3 – 9 м/с в направлении

	(штиль)	север	восток	юг	запад
		пыль	1,2	1,1	1,2
диоксид серы	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
диоксид азота	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
окись углерода	1	1	1	1	1
фенол	1	0,67	0,67	0,67	0,67
сумма	4,82	4,39	4,49	4,49	4,49

Для подтверждения выявленного на начальных этапах идентификации риска превышения нормативных величин агрегированного индекса загрязнения атмосферы, рассчитаны дозы химических веществ, попавших в организм человека при дыхании в загрязненном воздухе со следующими продолжительностями контакта:

- ® хронические воздействия – 30 лет ($30 \cdot 365 \cdot 24 \text{ ч} = 262800 \text{ ч}$);
- ® субхронические воздействия – 3 года ($3 \cdot 365 \cdot 24 \text{ ч} = 26280 \text{ ч}$);
- ® разовые воздействия – 3 дня ($3 \cdot 24 \text{ ч} = 72 \text{ ч}$).

Общие формулы расчета соответствующих доз химических веществ при различных продолжительностях воздействий будут следующими.

Хронические воздействия:

$$I = \frac{p \cdot 0,45 \cdot 262800}{70} = 1689,43 p,$$

муж в

$$I = \frac{p \cdot 0,3625 \cdot 262800}{70} = 1360,93 p,$$

жен в

Субхронические воздействия:

$$I = \frac{p \cdot 0,45 \cdot 26280}{70} = 168,943 p,$$

муж в

$$I = \frac{p \cdot 0,3625 \cdot 262800}{70} = 136,093 p$$

жен в

Разовые воздействия:

$$I = \frac{p \cdot 0,45 \cdot 72}{70} = 0,46 p,$$

муж в

$$I = \frac{p \cdot 0,3625 \cdot 72}{\text{жен} \quad 70 \quad \text{в}} = 0,37p$$

Результаты расчета доз загрязнителей по фоновым концентрациям, попавших в организм человека при дыхании в загрязненном воздухе с различными продолжительностями контакта, отображают таблицы 14-16:

Полученные величины доз с учетом референтных доз (концентраций) позволяют рассчитать индекс риска (ИР).

Референтная доза – суточное воздействие химического вещества в течение всей жизни, которое устанавливается с учетом всех имеющихся современных научных данных и, вероятно, не приводит к возникновению неприемлемого риска.

В таблицах 17-18 представлены полученные величины индекса риска при различных продолжительностях контакта.

Таблица 14 - Дозы загрязняющих веществ, дающих фоновые концентрации при хронических воздействиях

Загрязнители		Дозы (мг/кг) при скорости ветра				
		0 – 2 м/с (штиль)	3 – 9 м/с в направлении			
			север	восток	юг	запад
пыль	м	202,73	185,84	202,73	202,73	202,73
	ж	163,31	149,7	163,31	163,31	163,31
диоксид серы	м	10,14	10,14	10,14	10,14	10,14
	ж	8,17	8,17	8,17	8,17	8,17
диоксид азота	м	101,4	101,4	101,4	101,4	101,4

	ж	81,7	81,7	81,7	81,7	81,7
окись углерода	м	5068,29	5068,29	5068,29	5068,29	5068,29
	ж	4082,79	4082,79	4082,79	4082,79	4082,79
фенол	м	5,07	3,38	3,38	3,38	3,38
	ж	4,08	2,72	2,72	2,72	2,72

Таблица 15 - Дозы загрязняющих веществ, дающих фоновые концентрации при субхронических воздействиях

Загрязнители		Дозы (мг/кг) при скорости ветра				
		0 – 2 м/с (штиль)	3 – 9 м/с в направлении			
			север	восток	юг	запад
пыль	м	20,273	18,584	20,273	20,273	20,273
	ж	16,331	14,97	16,331	16,331	16,331
диоксид серы	м	1,014	1,014	1,014	1,014	1,014
	ж	0,817	0,817	0,817	0,817	0,817
диоксид азота	м	10,14	10,14	10,14	10,14	10,14
	ж	8,17	8,17	8,17	8,17	8,17
окись углерода	м	506,829	506,829	506,829	506,829	506,829
	ж	408,279	408,279	408,279	408,279	408,279
фенол	м	0,507	0,338	0,338	0,338	0,338
	ж	0,408	0,272	0,272	0,272	0,272

Таблица 16 - Дозы загрязняющих веществ, дающих фоновые концентрации при разовых воздействиях

Загрязнители	Дозы (мг/кг) при скорости ветра
--------------	---------------------------------

		0 – 2 м/с (штиль)	3 – 9 м/с в направлении			
			север	восток	юг	запад
ПЫЛЬ	м	0,055	0,051	0,055	0,055	0,055
	ж	0,044	0,041	0,044	0,044	0,044
диоксид серы	м	0,0028	0,0028	0,0028	0,0028	0,0028
	ж	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022
диоксид азота	м	0,028	0,028	0,028	0,028	0,028
	ж	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022
окись углерода	м	1,38	1,38	1,38	1,38	1,38
	ж	1,11	1,11	1,11	1,11	1,11
фенол	м	0,0014	0,00092	0,00092	0,00092	0,00092
	ж	0,0011	0,00074	0,00074	0,00074	0,00074

Индекс риска, аналогично дозам загрязняющих веществ, увеличивается при переходе от разовых воздействий к субхроническим и от субхронических к хроническим воздействиям и имеет более высокие значения для муж-чин, по сравнению с женщинами.

Таблица 17 - Индекс риска по фоновым концентрациям при хрониче-ских воздействиях

Загрязнители		Дозы (мг/кг) при скорости ветра				
		0 – 2 м/с (штиль)	3 – 9 м/с в направлении			
			север	восток	юг	запад
ПЫЛЬ	м	2027,3	1858,4	2027,3	2027,3	2027,3
	ж	1633,1	1497	1633,1	1633,1	1633,1

диоксид серы	м	202,8	202,8	202,8	202,8	202,8
	ж	163,4	163,4	163,4	163,4	163,4
диоксид азота	м	2535	2535	2535	2535	2535
	ж	2042,5	2042,5	2042,5	2042,5	2042,5
окись углерода	м	1689,43	1689,43	1689,43	1689,43	1689,43
	ж	1360,93	1360,93	1360,93	1360,93	1360,93
фенол	м	1690	1126,67	1126,67	1126,67	1126,67
	ж	1360	906,67	906,67	906,67	906,67
Сумма	м	8144,53	7412,3	7581,2	7581,2	7581,2
	ж	6559,93	5970,5	6106,6	6106,6	6106,6

Таблица 18 - Индекс риска по фоновым концентрациям при субхро-нических воздействиях

Загрязнители		Дозы (мг/кг) при скорости ветра				
		0 – 2 м/с (штиль)	3 – 9 м/с в направлении			
			север	восток	юг	запад
ПЫЛЬ	м	202,73	185,84	202,73	202,73	202,73
	ж	163,31	149,7	163,31	163,31	163,31
диоксид серы	м	20,28	20,28	20,28	20,28	20,28
	ж	16,34	16,34	16,34	16,34	16,34
диоксид азота	м	253,5	253,5	253,5	253,5	253,5
	ж	204,25	204,25	204,25	204,25	204,25
окись углерода	м	168,943	168,943	168,943	168,943	168,943
	ж	136,093	136,093	136,093	136,093	136,093
фенол	м	169	112,667	112,667	112,667	112,667
	ж	136	90,667	90,667	90,667	90,667

Сумма	м	814,453	741,23	758,12	758,12	758,12
	ж	655,993	597,05	610,66	610,66	610,66

Таблица 19 - Индекс риска по фоновым концентрациям при разовых воздействиях

Загрязнители		Дозы (мг/кг) при скорости ветра				
		0 – 2 м/с (штиль)	3 – 9 м/с в направлении			
			север	восток	юг	запад
пыль	м	0,55	0,51	0,55	0,55	0,55
	ж	0,44	0,41	0,44	0,44	0,44
диоксид серы	м	0,056	0,056	0,056	0,056	0,056
	ж	0,044	0,044	0,044	0,044	0,044
диоксид азота	м	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
	ж	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
окись углерода	м	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46
	ж	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
фенол	м	0,47	0,31	0,31	0,31	0,31
	ж	0,37	0,25	0,25	0,25	0,25
Сумма	м	2,236	2,036	2,076	2,076	2,076
	ж	1,774	1,624	1,654	1,654	1,654

Задание

1 Проанализировать результаты расчетов оценки агрегированного ин-декса загрязнения, приведенных в таблицах практического занятия

2 Сделать сравнительную характеристику дозы загрязняющих веществ для мужчин и для женщин

3 Оценить величины доз при различных воздействиях на организм че-

ловека

12 Практическое занятие № 12. Исследование содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны

Предусмотрено три вида санитарного ограничения содержания вред-ных веществ в воздухе рабочей зоны:

В Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ).

В Предельно-допустимые концентрации (ПДК).

В Тесты экспозиции.

Предельно-допустимые концентрации вредных веществ в воздухе ра-бочей зоны - такие концентрации, которые при ежедневной (кроме выходных дней) работе в течение 8 часов или при другой продолжительности, но не бо-лее 41 раза в неделю, в течение всего рабочего стажа не могут вызвать забо-леваний или отклонений в состоянии здоровья, обнаруживаемых современ-ными методами исследований в процессе работы или в отдаленные сроки жизни настоящего и последующих поколений.

ПДК в воздухе рабочей зоны должны быть установлены для химиче-ских соединений, обладающих вредным действием, которые могут

находить-ся в воздухе рабочей зоны в виде газов, паров, аэрозолей, а также смеси паров и аэрозоля.

Определяется максимально разовая и для высококумулятивных веществ - среднесменная концентрация. Степень кумулятивности определяется для каждого вещества путем определения коэффициента кумуляции, зоны биологического и хронического действия, а при корректировке ПДК - по результатам повторных клинико-гигиенических наблюдений.

Материалы по обоснованию ПДК вредных веществ апробируются секцией по установлению санитарных стандартов содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны Проблемной комиссии "Научные основы гигиены труда и профпатологии".

Гигиеническое нормирование основывается на признании принципа порогости всех типов действия химических соединений (в том числе мута-генного и канцерогенного) на целостный организм и должно учитывать необходимость комплексного подхода к установлению порогов вредного действия.

Гигиеническое нормирование новых химических веществ проводится

В три этапа:

обоснование ориентировочных безопасных уровней воздействия (ОБУВ);

обоснование ПДК, которое выполняется в соответствии с настоящими методическими указаниями;

корректирование ПДК путем сравнения условий труда работающих
состояния их здоровья.

Первый этап приурочивается к периоду лабораторной разработки новых соединений.

Второй этап - к периоду полужаводских испытаний и проектированию производств.

Третий этап выполняется после внедрения веществ в производство в сроки, устанавливаемые в зависимости от токсикологической характеристики веществ и гигиенической характеристики производства, но не позднее 3 - 5 лет с момента внедрения.

Предлагаемая программа исследований (последовательность, объем, методы и так далее) не должна связывать творческой инициативы научных коллективов и отдельных научных сотрудников в смысле привлечения и использования дополнительных и особенно новых адекватных методов.

Исследования в каждом конкретном случае следует проводить в соответствии с характером действия веществ, степенью изученности других веществ, близких к нему по химическому строению и физико-химическим свойствам, и рядом других факторов.

Целесообразно сокращение объема исследований по обоснованию

ПДК веществ в следующих случаях:

при принадлежности вещества к гомологическому ряду, представители которого имеют утвержденную величину ПДК для воздуха рабочей зоны;

при принадлежности веществ к изученному классу соединений с известным механизмом действия;

для веществ с установленными в законодательном порядке санитарными нормативами в атмосфере населенных мест, в воде и других средах по показателям общей токсичности;

при наличии соответствующего метода ускоренного обоснования ПДК.

К ускоренным методам обоснования ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны относятся методы, позволяющие на современном уровне знаний сократить полную программу по обоснованию ПДК вредных веществ без ущерба для токсичности определения величины ПДК.

Ускоренный метод обоснования ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны включает определение необходимых и достаточных в каждом конкретном случае параметров токсикометрии веществ, устанавливаемых в соответствии с настоящими методическими указаниями, регистрацию пато-генетически значимых реакций организма в ранние сроки интоксикации и расчет величины ПДК с помощью интерполяции и экстраполяции в рядах соединений, близких по химической структуре, физико-химическим свойствам

биологическому действию.

Во всех случаях важно иметь данные о сравнительной токсичности изучаемого вещества с близкими по химическому строению и физико-химическим свойствам веществами, для которых в законодательном порядке утверждены ПДК.

Токсикологическому исследованию в полном объеме подвергаются:

- вещества, подлежащие широкому внедрению в практику;
- вещества, относящиеся к неизученным или мало изученным классам соединений;
- вещества, опасные в плане развития отдаленных и необратимых эффектов.

Для обоснования ПДК и других профилактических мероприятий в эксперименте на животных необходимы следующие сведения:

- 1 Условия производства и применения вещества.
- 2 Данные о химическом строении и физико-химических свойствах.
- 3 Токсичность и характер действия вещества при однократном воздействии на организм.
- 4 Порог вредного действия при однократном поступлении вещества в организм.
- 5 Кумулятивная способность вещества при повторном воздействии на организм.
- 6 Порог вредного действия при хроническом поступлении вещества на организм.
- 7 Обоснование коэффициента запаса.
- 8 Исследование местного раздражающего и кожнорезорбтивного действия вещества.

12.1 Условия производства и применения вещества

Представляются сведения о способе производства и областях применения; дается характеристика производственной среды (в том числе концентрации вещества в воздухе на опытных и полужаводских установках). Описываются условия поступления вещества в воздух и его агрегатное состояние в воздухе.

12.2 Данные о химическом строении и физико-химических свойствах вещества

Необходимо иметь структурную формулу вещества, данные о молекулярной массе, плотности, точке кипения (плавления), упругости паров при 20 °С, стойкости (гидролиз, окисление и так далее) и возможных продуктах превращения в воздухе. Следует указать растворимость в воде, жирах и других средах. Желательно привести коэффициент растворимости паров в воде, показатель преломления, поверхностное натяжение, энергию разрыва связи и др.

12.3 Токсичность и характер действия веществ при однократном воздействии на организм

Вещество изучается при следующих путях поступления в организм: при вдыхании, введении в желудок, нанесении на кожу. При изучении сравнительной токсичности возможно введение веществ в брюшную полость.

В опытах на животных (белых мышах массой 18 - 24 г) определяется концентрация (доза), вызывающая гибель 50 % подопытных животных (CL₅₀ при экспозиции 2 часа, DL₅₀), с доверительными границами. В случае использования белых крыс (масса 180 - 240 г) и др. видов животных - экспозиция 4 часа. Максимально вводимая доза в желудок - 10 г/кг.

Для неизвестных и мало изученных классов веществ необходимо определение сравнительной видовой чувствительности на 4 видах лабораторных грызунов (возможно применение метода "одной точки"), для остальных веществ - на 2 видах.

Представляются подробные сведения о количестве животных в каждой группе (на каждую концентрацию, дозу - не менее 6), величинах

испытанных концентраций (доз), сроках гибели животных в течение 2 недель. Желательно использование животных обоего пола.

При определении CL_{50} и DL_{50} регистрируют характер токсического действия вещества, подробно описывают картину отравления и морфологических изменений в органах и тканях.

При определении токсичности веществ при ингаляционном отравлении рекомендуются следующие условия:

а) предпочтителен динамический способ затравок;

б) в эксперименте должно исследоваться влияние вещества в том же агрегатном состоянии, которое имеет место в воздухе рабочей зоны.

При малой стабильности химического соединения в воздухе и образовании при этом вторичных вредных продуктов следует ориентироваться на ингредиент, являющийся характерным для данной смеси или ведущим в клинической картине отравления.

Должен производиться регулярный контроль реальных концентраций

В зоне дыхания животных химическими или физическими методами, а также температуры и влажности воздуха.

Введение вещества в желудок производится через 3 часа после кормления в чистом виде или в водном растворе, в растительном масле, индифферентном растворителе (полиэтиленгликоле и т.п.), в виде эмульсий или суспензий в крахмале, полиэтиленгликоле и т.п. Вводимый объем для белых мышей не должен превышать 1 мл и для крыс - 5 мл. Кормление животных производится через 3 часа после введения вещества.

12.4 Порог вредного действия (Lim_{ac}) при однократном поступлении вещества в организм

При однократном воздействии устанавливаются пороги вредного действия по интегральным (неспецифическим) показателям (Lim_{ac}) и специфическим показателям, характеризующим состояние отдельных органов и систем организма (Lim_{acsp}).

Соотношение между порогом вредного действия, установленным по интегральным показателям, и минимальной концентрацией, вызывающей избирательный эффект, служит мерой избирательности действия вещества:

$$Z_{sp} = \frac{Lim_{ac}}{Lim_{acsp}}, \quad (29)$$

где Lim_{ac} - порог однократного (острого) действия - минимальная концентрация (доза), вызывающая изменения биологических показателей на уровне целостного организма, которые выходят за пределы приспособительных физиологических реакций;

Lim_{acsp} - порог однократного (острого) специфического действия - минимальная концентрация (доза), вызывающая изменения биологических функций отдельных органов и систем организма, которые выходят за пределы приспособительных физиологических реакций.

Для определения Lim_{ac} , а также Lim_{acsp} используется не менее двух показателей.

Исследования проводятся не менее чем на двух видах животных. Желательно применение не только грызунов, но также лабораторных видов плотоядных и всеядных животных. Экспозиция - 2 часа для мышей, 4 часа - для других видов животных.

Должно быть применено не менее трех концентраций. Разрыв между концентрациями определяет степень токсичности вещества и его кумулятивные свойства (обычно разрыв составляет от 5 до 10 раз).

Статистическая группа для мелких животных должна быть не менее 12 особей. В зависимости от вариабельности показателя и степени точности исследования необходимое количество животных следует вычислять по формуле (см. "Рекомендации по статистической обработке результатов экспери-

ментально-токсикологических исследований". М., 1965; А.М.Мерков, Л.Е.Поляков. "Санитарная статистика". Л., 1974).

отдельных случаях при проведении опытов на крупных лабораторных животных при сравнении с фоном допускается использование группы из шести животных.

Целесообразно оценивать состояние организма с учетом скорости развития реакции на протяжении восьми дней, выполняя обследования животных в день затравки, а также на 2, 4 и 8-й день после нее. При этом следует учитывать максимальное отклонение величины исследуемого показателя.

Должны быть представлены первичные данные опытов в виде таблиц

о результаты статистической обработки. Целесообразно вычисление Lim_{ac} как вероятностной величины.

12.5 Кумулятивная способность вещества при повторном воздействии на организм

Кумуляция (позднелат. *cumulatio* — скопление, от лат. *cumulo* — накапливаю, усиливаю) — накопление биологически активного вещества (материальная кумуляция) или вызываемых им эффектов (функциональная кумуляция) при повторных воздействиях лекарственных веществ и ядов на организм. Коэффициент кумуляции ($DL50_{сумм}/DL50$) определяется отношением средней летальной дозы при однократном воздействии к суммарной дозе, вызвавшей такой же исход в эксперименте при длительном воздействии не одинаковых по величине малых концентраций. Индекс кумуляции (I_k) - ориентировочный показатель ($1 - DL50_{14сут}/DL50_{1сут}$)

Материальная кумуляция (синоним — аккумуляция) количественно характеризуется при исследовании фармакокинетики, токсикокинетики.

Функциональная кумуляция выявляется при проведении исследования кумуляции, являющегося частью рутинного экспериментального изучения

общетоксического действия фармакологических веществ и других токсикантов. Изучение общетоксического действия включает в себя:

• исследование острой токсичности — характеристика количества вещества вызывающего гибель животных при однократном воздействии;

✎ исследование кумулятивности — характеристика количества вещества вызывающего гибель животных при повторных воздействиях;

✎ исследование хронической токсичности — выявление характера отравления при длительном воздействии и определение безопасных доз.

Целью исследования кумулятивности является выяснение характера действия вещества на организм при повторных введениях и подбор доз для проведения хронических экспериментов. Подбор проводится на основании сравнения доз вещества, вызывающих гибель животных при однократном и повторном воздействии. Под кумулятивным действием здесь понимают *усиление* действия яда при повторном его воздействии.

Для исследования кумулятивности используются различные методы, основанные на учёте гибели животных при повторном воздействии изучаемого вещества. Предпочтение зачастую отдаётся методу Lim'a., позволяющему оценить в одном исследовании не только кумулятивные свойства вещества при его воздействии на организм, но и развитие толерантности (привыкания)

= нему.

12.5.1 Схема изучения кумуляции методом субхронической токсичности по Lim'у.

первые четыре дня ежедневно вводится доза, составляющая десятую часть от DL_{50} (DL_{50} - доза, вызывающая гибель половины в группе животных; устанавливается в ходе исследования острой токсичности). Затем дозу повышают в 1,5 раза и вводят последующие четыре дня. (После введения вещества

и восьмой раз накопленная доза составляет одну полуметальную дозу.)
 При необходимости исследование продолжают и далее, каждые четыре дня по-
 вышая дозу в 1,5 раза от предыдущего уровня до тех пор, когда погибнет
 половина животных (обычно 5 из 10). Рассчитывают коэффициент
 кумуляции:

$$DL_{50;n}$$

$$DL_{50;1}$$

$$K_k = \frac{DL_{50;n}}{DL_{50;1}}, \quad (30)$$

где K_k - коэффициент кумуляции;

$DL_{50;n}$ - средняя смертельная доза накопленная при n -кратном
 введении; $DL_{50;1}$ - средняя смертельная доза при однократном
 введении.

При $K_k < 1$ - говорят о кумуляции (в смысле усиления действия яда), если
 $K_k > 1$ - о толерантности.

Полученная качественная (в лучшем случае порядковая) оценка не-
 формально используется при планировании хронического эксперимента.
 Альтернативой является количественное определение коэффициента
 кумуляции, который даёт возможность прогнозировать вероятность

гибели живот-ных при планировании исследований хронической токсичности.

12.5.2 Количественное определение коэффициента кумуляции

Коэффициент кумуляции (k) определяется, как доля вещества (или эффекта) продолжающая оказывать своё действие ко времени следующего введения таким образом, что последовательность эффективных доз D_i пред-ставляется в виде:

$$D_i = D_0 + k \cdot D_{i-1}, i = 0 \dots n, D_{-1} = 0, \quad (31)$$

где D_0 - реально вводимая постоянная или изменяемая как в схеме Lim'a до-за.

Вероятность гибели животных от последовательности из $n + 1$ введе-

ний рассчитывают как вероятность появления хотя бы одного из совокупно-сти событий:

$$P = 1 - \prod_{i=0}^n (1 - p_i), \quad (32)$$

где p_i - вероятность гибели животных при воздействии вещества в эффективной дозе D_i определяется из зависимости $p = \Phi(x)$, где $\Phi(x)$ - функция нормального распределения, параметры которого определяются методом пробит анализа в ходе исследования острой токсичности. Коэффициент кумуляции в этом определении выступает в качестве меры зависимости между последовательно вводимыми дозами D_0 . Численное значение коэффициента кумуляции подбирается таким, чтобы последовательность D_i соответствовала вероятности P полученной в эксперименте по исследованию кумулятивности.

Качественно величину коэффициента в диапазоне от -1 до 0 можно интерпретировать как развитие толерантности, 0 — как отсутствие зависимости между повторными воздействиями вещества, от 0 и выше — как кумуляцию (больше 1 — кумуляция в узком смысле слова). Полученную оценку можно использовать для определения потенциального риска гибели от применения вещества в различных дозах и сроках, либо, задавая приемлемую вероятность, определять соответствующие режимы введения исследуемого вещества. Очевидно, что прогностическая сила оценки ограничена некоторой областью вокруг точки (дозы, кратность) в которой получено экспериментальное значение P при исследовании кумулятивности. Например, легко представить, что определив в краткосрочном эксперименте привыкание к этиловому спирту, не стоит рассчитывать на устойчивость этого качества при воздействии больших доз в длительном эксперименте.

Наиболее простыми методами выявления кумулятивных свойств веществ являются методы Лима и соавт. (Lim et al., 1969) и Ю.С.Кагана и В.В.Станкевича (1964) - ежедневное воздействие, начиная с 1/10 ДЛ₅₀.

Целесообразно определение кумулятивных свойств на уровне порога острого действия (ежедневное воздействие в долях Lim_{ac}).

Σ случае, если DL_{50} более 10 г/кг, коэффициент определяется на уровне эффективной дозы.

На основании полученных данных вычисляют коэффициент кумуляции. При оценке способности вещества к кумуляции следует также учитывать величину зоны хронического и биологического действия.

Наиболее широко в нашей стране применяется метод Кагана Ю.С. и Станкевича В.В., в котором K_k оценивается как отношение суммарной дозы, полученной в опыте с повторным введением вещества, ΣDL_{50} к DL_{50} при однократном введении:

$$K_k = \frac{\sum DL_{50}}{DL_{50}} . \quad (33)$$

Это соотношение именуют степенью кумуляции и выражают в процен-

тах.

Таблица 20 - Классификация кумулятивного действия по Л.И. Медведю и соавт. (1968) и ее модификация (А.А.Голубев и соавт., 1973)

	По Л.И.Медведю и соавт.	Модификация А.А.Голубева и соавт.
--	-------------------------	-----------------------------------

	Коэффициент кумуляции	Степень кумуляции	Коэффициент кумуляции	Степень кумуляции
1	2	3	4	5
I Сверх кумуляция	<1	>100 %	<1	>100 %
II Выраженная кумуляция	1...3	100...34 %	1...2,2	100...46 %

Продолжение таблицы 20

1	2	3	4	5
III Средняя кумуляция	>3...5	33...20 %	>2,2...5	45...20 %
IV Слабая кумуляция	>5	<20 %	>5	<20 %

12.6 Порог вредного действия при хроническом поступлении веществ в организм

Задачей исследований является изучение хронической интоксикации и выявление минимальной (пороговой) концентрации, вызывающей гигиенически значимые изменения интегральных или специфических показателей при хроническом отравлении.

Опыты проводятся на белых крысах, а при выраженных различиях видовой чувствительности и на более чувствительном виде животных; экспозиция по 4 часа в день, 5 раз в неделю на протяжении 4 месяцев.

Выбор концентраций в хроническом эксперименте должен основываться на знании свойств веществ (быстрое обезвреживание или способность

и кумуляции), а также на данных о сравнительной токсичности близких по строению и характеру действия соединений.

Исследуются вещества в 2 - 3 концентрациях с установлением пороговой и недействующей.

В том случае, если в течение первых месяцев развиваются патологические изменения, затравка может быть прекращена. Должны быть указаны средняя взвешенная концентрация в каждой камере, ее стандартное отклонение, ошибка, коэффициент вариабельности и так далее.

Исследование хронического действия проводится на одинаковых по количеству подопытных группах с соответствующим контролем. Группы должны быть равноценны по основным показателям. Подопытные и контрольные группы определяются методом случайной выборки (жеребьевкой).

Должен быть применен комплекс функциональных, биохимических, морфологических (желательно морфометрических) и гистологических, а также токсикокинетических и др. показателей, связанных с типом действия яда.

Каждый тест испытывается не менее чем на 12 мелких и шести крупных животных.

Возможно исследование нескольких показателей на одной и той же группе в том случае, если снятие одного показателя не влияет на результаты другого. После применения экстремальных нагрузок животные из эксперимента выводятся.

Общее минимальное количество животных, используемых на каждую концентрацию, должно быть не менее 36 - 48.

В течение хронического опыта исследования состояния животных проводятся в динамике. Первое обследование должно проводиться через 1 - 2 недели (но не после выходного дня). Дальнейшие обследования проводятся ежемесячно.

По окончании хронического эксперимента часть подопытных и контрольных животных забивается для гистологического исследования. На оставшихся в живых - прослеживается восстановительный период (не менее 1 месяца). Целесообразно вычисление Lim_{ch} как вероятностной величины.

12.7 Обоснование коэффициента запаса

При переходе от пороговой концентрации в хроническом опыте к ПДК необходимо правильно выбрать коэффициент запаса. При определении коэффициента запаса (отношение минимально действующей концентрации в хроническом опыте к ПДК) надлежит исходить из следующих положений. Коэффициент запаса должен увеличиваться:

В с увеличением абсолютной токсичности;

В с увеличением КВИО;

В с уменьшением зоны острого действия;

В с увеличением кумулятивных свойств (коэффициента кумуляции, зоны хронического действия, зоны биологического действия);

В при значительных различиях в видовой чувствительности подопытных животных;

В при выраженном кожно-резорбтивном действии (для веществ, находящихся в газовой фазе).

Решение в каждом конкретном случае зависит от особенностей действия яда, от адекватности и чувствительности показателей, избранных для определения минимально действующей концентрации. В обычных случаях

коэффициент запаса не должен быть менее 3 и не должен превышать 20.

Коэффициент запаса ($K_{зан}$) - рассчитывается как отношение минимально действующей дозы в хроническом опыте к ПДК:

$$K_{зан} = \frac{Lim_{ch}}{ПДК}, \quad (34)$$

где Lim_{ch} - порог хронического действия - минимальная концентрация, вызывающая вредное действие в хроническом эксперименте по 4 часа пять раз в неделю на протяжении не менее 4 месяцев.

Коэффициент запаса увеличивается при выраженном кожно-резорбтивном действии. Наименьшие коэффициенты запаса чаще всего применяются для раздражающих веществ (2-4). Наиболее часто используемый коэффициент запаса равняется 10.

Величина коэффициента запаса во многом зависит от максимально без-вредной дозы вещества (D_m) определенной в хроническом эксперименте на лабораторных животных. Для веществ, D_m которых для

животных составляет десятые доли мг/кг, обладающих большой стойкостью во внешней среде, вы-раженными кумулятивными свойствами, рекомендуют коэффициент запаса

S (например: диоксины). Если D_m 1-5 мг/кг, коэффициент запаса выбирают

в пределах 50-100. Для веществ с умеренной стойкостью и слабой кумуляци-ей, со значением D_m для животных более 5 мг/кг рекомендуют коэффициент запаса 30-50.

12.8 Исследование местного раздражающего и кожно-резорбтивного действия веществ

Изучение местного раздражающего действия и резорбции веществ че-рез неповрежденную кожу проводится в соответствии с методическими ука-заниями "Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно-допустимых уровней загрязнения кожи", утвержденными зам. Главного государственного санитарного врача СССР

N 2102-74 от 01.12.79 г.

При исследовании местного действия веществ на слизистые оболочки глаза изучаемый продукт закапывают в конъюнктивальный мешок глаза кро-лика в количестве 1 - 2 капель. Твердые вещества вносят в количестве 50 мг (дисперсность частиц до 10 мк). После внесения на 1 мин прижимают слез-носовой канал у внутреннего глаза. Внесение вещества проводят однократ-но.

Регистрируют появление и выраженность гиперемии, отечность и инъекцию сосудов склеры и роговицы. Ежедневно проводят наблюдения за прозрачностью роговицы визуально либо при помощи офтальмоскопа с боко-вым освещением или щелевой лампы и др. Обращают внимание на состояние век. Оценку местного действия производят по характеру конъюнктивита (по-верхностный, глубокий), кератита.

12.9 Критерии для установления порогов вредного действия

Порог вредного действия может быть охарактеризован, в частности, следующими признаками, рассматриваемыми в комплексе:

а) изменения статистически значимо ($P \leq 0,05$) отличаются от парал-лельного контроля и выходят за пределы физиологических колебаний средне-групповых значений показателя данной серии контрольных животных;

б) статистически значимых ($P \leq 0,05$) изменений по сравнению с па-раллельным контролем нет, но наблюдаются скрытые нарушения равновесия

в) в окружающей среде (сужение возможности адаптации), выявляемые, в частно-сти, при помощи адекватных по силе и направленности действия нагрузоч-ных тестов.

Наиболее рационально для выявления действия использовать порого-вые нагрузки путем исследования влияния вещества на быстрореагирующие системы (центральную и вегетативную нервные, сердечно-сосудистую, сим-пато-адреналовую и другие).

качестве экстремальных являются следующие нагрузки (плавание, бег на третбане, голод, кровопускание, введение

тифопаратифозной вакцины, облучение, термическое воздействие, гипер- и гипотермия, острая гипоксия и другие):

в) изменения статистически значимо ($P \leq 0,05$) отличаются от контроля, находятся в пределах физиологической нормы, однако стойко сохраняются (в хроническом эксперименте на животных) - более 1 месяца после окончания воздействия.

Кроме того, в качестве критерия вредности могут быть использованы в частности, следующие приемы:

1 Проведение параллелей между результатами биохимических, физиологических и морфологических исследований. Если функциональные изменения выходят за пределы гомеостатических колебаний и сопровождаются изменениями структуры тканей и органов, то найденные сдвиги следует рассматривать как патологические, вредные для организма. Если обнаруженные функциональные изменения прогрессируют во времени и тем более, если они не исчезают в восстановительный период, то их тогда следует расценивать как вредные, патологические.

2 Изучение состояния токсикокинетики и метаболизма. Определение содержания исходного вещества и его метаболитов в различных биосубстратах в сопоставлении с различными функциональными изменениями.

Адаптация - истинное приспособление организма к изменяющимся условиям окружающей среды (особенно химическим), которое происходит без каких-либо необратимых нарушений данной биологической системы и без превышения нормальных (гомеостатических) способностей ее реагирования, то есть тогда, когда после определенного периода

воздействия реакция на токсичные вещества (обычно имеющие низкую концентрацию) полностью

S навсегда исчезает и не может быть обнаружена с помощью различных функциональных нагрузок или широких дополнительных исследований.

Компенсация - приспособление организма к изменяющимся условиям окружающей среды (особенно химическим) обусловлено возникновением стрессов в биологических системах, которые превышают пределы обычных (гомеостатических) возможностей. Компенсация является временно скрытой патологией, которая со временем может обнаруживаться в виде явных пато-логических изменений (декомпенсация).

Задание

1 Рассчитать ПДК_{сс} для веществ.

Рассчитать степень кумуляции для веществ.

Рассчитать коэффициент запаса для веществ (за ПДК принять средне-суточную концентрацию).

Сделать выводы.

Исходные данные для расчета приведены в приложении Г.

Список использованных источников

☒ Горбачева, Т.В. Состояние и перспективы развития аналитической токсико-логии / Т.В. Горбачева, Е.С. Бушуев //Токсикология: в 11т. - 2010.- Т.11. С. 43 - 45. URL: <http://www.medline. Ru>.

☒ Келнна, Н.Ю. Токсикология в таблицах и схемах / Н.Ю. Келнна, Н.Е. Без-ручко. - Ростов на Дону: Феникс. 2006. - 144 с.

□ Бова, А.А. Токсикология экстремальных ситуаций. Практикум: учеб. пособие/ А.А. Бова, С.С. Горохов, А.Н. Ряполов. – Минск: БГМУ, 2010. – 266 с. - ISBN 978-985-528-199-4.

4 Нестерова, Е.Н. Основы токсикологии: учеб. пособие для студентов □ Е.Н. Нестерова. - Брянск: Издательство Брянской государственной инженерно-технологической академии, 2006. - 51 с.

5 Остроумов, С.А. Совершенствование системы критериев экологической опасности химических веществ / С.А. Остроумов // Прикладная токсикология. – 2011. - № 2 (4). – С.18-26.

6 Курляндский, Б.А. Современные тенденции в международном сотрудничестве по химической безопасности в свете Стратегического подхода к международному регулированию химических веществ / Б.А.Курляндский, А.А. Ви-ноградова // Токсикологический вестник. – 2008. № 6. – С.2-9.

7 Куценко, С. А. Основы токсикологии / С.А.Куценко. - Санкт-Петербург: Военно-мед. акад., 2002. – 395 с.

8 Основы токсикологии: Краткий текст лекций /Иван. гос. хим.-технол. ун-т. - Иваново, 1999. - 105 с.

9 Топурия, Г.М. Общая токсикология. Руководство к практическим занятиям

по токсикологии: учеб. пособие / Г.М. Топурия, Л.Ю Топурия,

Н.Г.

Курамшина. - Оренбург: ОГПУ, 2005. - 172 с.

10 Сердюк, В.С. Основы токсикологии: учеб. пособие/ В.С. Сердюк,

Л.Г. Стищенко. – Ханты-Мансийск: РИЦ ЮГУ, 2006. – 232 с.

11 Лабораторный практикум по дисциплине Основы токсикологии. – Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2004. – 22 с.

12 Максименко, Л.В. Руководство к лабораторным занятиям по гигиене труда: учеб. пособие для студентов специальности «Лечебное дело»: в 3 книгах

/ Л.В. Максименко, Н.А. Дрожжина, Е.А. Пивень; под ред. проф. Д.И.Кичи.
– М.:РУДН, 2010. – Книга 3. - 149 с.

Приложение А

(обязательное)

Исходные данные для практической работы

Таблица А.1 - Индивидуальное отношение экспозиции загрязняющих

веществ

Загрязнители	Индивидуальное отношение экспозиции при скорости ветра				
	0-2 м/с (штиль)	3-9 м/с в направлении			
		Север	Восток	Юг	Запад
Пыль	1,2	1,1	1,2	1,2	1,2

Диоксид серы	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
Диоксид азота	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
Окись углерода	0,967	1	0,967	0,967	0,967
Сероводород	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4

Таблица А.2 - Дозы загрязняющих веществ, дающих фоновые концентрации

№ варианта	Токсиканты		Дозы (мг/кг) при скорости ветра				
			(штиль)	3-9 м/с в направлении			
				север	восток	юг	запад
1	Пыль	м					
2		ж					
3	Диоксид серы	м					
4		ж					
5	Диоксид азота	м					
6		ж					
7	Окись углерода	м					
8		ж					

9	Сероводород	м					
10		ж					

102

Приложение Б

(обязательное)

Исходные данные для практической работы

Таблица Б.1– Исходные данные для расчета доз химического вещества, попавшего в организм человека при дыхании в загрязненном воздухе

№ варианта	Токсиканты		Рв, мг/м ³	ЕТ, ч	BW , кг
	1	Пыль	м	0,12	1
2	ж		55		
3	Диоксид серы	м	0,006	1,15	78
4		ж			51

5	Диоксид азота	м	0,06	1,3	85
6		ж			49
7	Окись углерода	м	3	1,5	79
8		ж			53
9	Сероводород	м	0,003	2	77
10		ж			52

Приложение В

(обязательное)

Данные для расчета среднеэффективной дозы токсикантов

Таблица В.1 - Данные для расчета среднеэффективной дозы токсикан-тов по методу Беренса

№ Варианта	Исходный показатель				
	d	A , мг/кг	B , мг/кг	A , %	B , %
1	10	170	180	41,7	78,6
2	12	167	186	43,8	79,9
3	8	194	195	39,4	56,9
4	4,8	204	167	51,2	83,2
5	9,3	185	173	44,6	88,6

Таблица В.2 - Данные для расчета среднеэффективной дозы
токсикан-тов по методу Кербера

Данные для определения $LD_{50/30}$

Дозы, г.	6	7	8	9	10	11	12
Выжило животных	10	8	6	5	4	3	0
Погибло животных	0	2	4	5	6	7	10
Z		1,0	3,0	4,5	5,5	6,5	8,5
D		1	1	1	1	1	1
Zd		1	3	4,5	5,5	6,5	8,5

1
0
4

Приложение Г

(обязательное)

Данные для расчета пороговых воздействий веществ

Таблица Г.1 – Данные для расчета пороговых воздействий веществ

№ варианта	Ингредиент	Единица измерения	Время наблюдения				$DL_{50;l}$ мг/кг	$DL_{50;l}$ мг/кг	Lim_{ch}
			1 час	7 часов	13 ча-сов	19 ча-сов			
			4	5	6	7	8	9	
1	Диоксид азота	МГ/М ³	0,01	0,02	0,03	0,02	0,17	0,03	1
	Диоксид серы	МГ/М ³	0,05	0,06	0,07	0,07	0,06	0,1	0,0
	Сероводород	МГ/М ³	0,005	0,006	0,002	0,007	0,006	0,02	0,0
	Пентан	МГ/М ³	120	10	15	5	0,3	1,2	0,00
2	Диоксид азота	МГ/М ³	0,0425	0,04	0,03	0,02	0,06	0,04	0,01
	Диоксид серы	МГ/М ³	0,4	0,06	0,08	0,07	0,6	0,1	0,1
	Сероводород	МГ/М ³	0,005	0,006	0,01	0,007	0,006	0,032	1,
	Серовуглерод	МГ/М ³	0,005	0,011	0,009	0,005	3	4,5	0,0
3	Диоксид азота	³ МГ/М	0,01	0,17	0,03	0,02	0,17	0,03	0,0
	Диоксид серы	МГ/М ³	0,05	0,06	0,1	0,03	0,06	0,08	0,0
	Сероводород	МГ/М ³	0,005	0,006	0,02	0,009	0,002	0,08	0,0
	Метанол	МГ/М ³	0,2	0,3	1,2	0,4	1,5	0,005	0,00

4	Диоксид азота	МГ/М ³	0,08	0,06	0,04	0,02	0,04	0,005	0,01
	Диоксид серы	МГ/М ³	0,05	0,6	0,1	0,025	0,25	0,01	0,1
	Сероводород	МГ/М ³	0,002	0,006	0,032	0,001	0,005	0,05	0,0
	Бензин	МГ/М ³	1,5	3	4,5	3	0,3	0,005	0,00
5	Диоксид азота	МГ/М ³	0,04	0,17	0,03	0,02	0,002	0,2	0,
	Диоксид серы	МГ/М ³	0,25	0,06	0,1	0,03	1,5	0,005	0,00
	Сероводород	МГ/М ³	0,005	0,16	0,024	0,002	0,03	0,09	0,00
	Пыль	МГ/М ³	0,3	0,3	0,6	0,075	0,05	0,06	1
6	Диоксид азота	МГ/М ³	0,08	0,06	0,04	0,02	0,16	0,024	0,1
	Диоксид серы	МГ/М ³	0,05	0,6	0,1	0,025	0,3	0,6	0,
	Сероводород	МГ/М ³	0,002	0,006	0,032	0,001	0,06	0,04	0,0
	Бензин	МГ/М ³	1,5	3	4,5	3	0,6	0,1	0,

10.

Продолжение таблицы Г.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
7	Диоксид азота	МГ/М ³	0,03	0,09	0,03	0,02	0,006	0,032	0,00
	Диоксид серы	МГ/М ³	0,05	0,06	0,09	0,07	3	4,5	1
	Сероводород	МГ/М ³	0,005	0,006	0,005	0,007	0,4	0,06	0,0
	Пентан	МГ/М ³	20	30	35	45	0,005	0,006	0,0
8	Диоксид азота	МГ/М ³	0,0425	0,04	0,03	0,02	0,005	0,011	0,00
	Диоксид серы	МГ/М ³	0,4	0,06	0,08	0,07	0,01	0,17	0,0
	Сероводород	МГ/М ³	0,005	0,006	0,01	0,007	0,05	0,06	0,

	Серовуглерод	МГ/М ³	0,005	0,011	0,009	0,005	0,005	0,006	0,0
9	Диоксид азота	МГ/М ³	0,03	0,07	0,03	0,04	0,2	0,3	1,3
	Диоксид серы	МГ/М ³	0,05	0,6	0,1	0,03	0,08	0,06	0,0
	Сероводород	МГ/М ³	0,004	0,006	0,016	0,004	0,4	0,06	0,0
	Метанол	МГ/М ³	0,4	0,7	0,7	0,6	0,005	0,006	0,0
10	Диоксид азота	МГ/М ³	0,04	0,06	0,08	0,04	0,005	0,011	0,00
	Диоксид серы	МГ/М ³	0,25	0,06	0,1	0,6	0,03	0,07	0,0
	Сероводород	МГ/М ³	0,005	0,16	0,004	0,002	0,05	0,6	0,
	Пыль	МГ/М ³	0,3	0,3	0,15	0,15	0,004	0,006	0,01

