

# Laboratorium 9

## Toksykologia środowiska

### Zalecana literatura:

Anigacz W., Zakowicz E. 2003. Ochrona środowiska. Politechnika Opolska, Wydział Budownictwa.

[http://www.dbc.wroc.pl/Content/12115/SiM\\_z.147\\_p.pdf](http://www.dbc.wroc.pl/Content/12115/SiM_z.147_p.pdf)

### Rozdziały:

- 2.5. Oddziaływanie zanieczyszczeń powietrza na środowisko (wszystkie podrozdziały).
- 3.4. Pojęcie zanieczyszczenia wód i ochrony jakościowej wód.
- 4.7.3. Degradacja gleby wywołana związkami chemicznymi i innymi toksynami.
- 4.10. Wpływ środowiska glebowego na zdrowie człowieka.
- 4.11. Pestycydy (wszystkie podrozdziały).

### Zadanie 1. Badanie wpływu trucizn na intensywność oddychania i fotosyntezy testem A-Z

Test A-Z polega na pomiarze intensywności fotosyntezy przez glony - część A, oraz pomiarze biochemicznego zapotrzebowania tlenu przez bakterie - część Z, w obecności badanych trucizn. Parametrem mierzonym jest przyrost lub ubytek tlenu określany metodą Winklera w stosunku do prób kontrolnych. Autor metody zaleca dokonywanie pomiarów po upływie 1, 3 i 5 dni. Na zajęciach pomiar dokonany będzie po upływie 7 dni.

### Materiały:

woda do rozcieńczeń, algicyd, butelki tzw. tlenówki (100 lub 50 cm<sup>3</sup>), zlewki - 250 cm<sup>3</sup>, zawiesina bakterii *Pseudomonas fluorescens*, zawiesina glonów *Chlorella*, tace, pipety, biurety, kolbki do miareczkowania, cylindry, alkaliczny roztwór jodku potasu, roztwór siarczanu manganawego, stężony kwas siarkowy.

### Wykonanie:

#### Test A

1. Przygotować pięć połowicznych rozcieńczeń algicydu w wodzie do rozcieńczeń (odstana woda wodociągowa albo woda z akwarium) oraz kontrolę (woda do rozcieńczeń)
2. Rozcieńczenia i kontrolę w zlewkach zaszczipić glonami *Chlorella sp.* (5 cm<sup>3</sup>).
3. Rozlać rozcieńczenia do butelek tlenówek (po 2 powtórzenia). Butelki wypełnić tak, aby po zamknięciu korkiem nie było w nich pęcherzyka powietrza.
4. W jednej z butelek dla każdego rozcieńczenia oznaczyć zawartość tlenu metodą Winklera w dniu rozpoczęcia eksperymentu.

5. Drugą z butelek z każdego rozcieńczenia inkubować w termoluminostacie 7 dni przy oświetleniu 2500 luxów i temperaturze 20°C. Potem oznaczyć zawartość tlenu metodą Winklera.

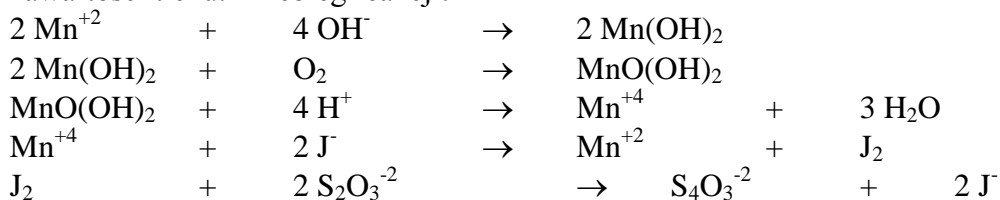
### Test Z

1. Przygotować pięć połowicznych rozcieńczeń algicydu w wodzie do rozcieńczeń (odstana woda wodociągowa albo woda z akwarium) oraz kontrolę (woda do rozcieńczeń).
2. Dodać po 5 mg/dm<sup>3</sup> peptonu.
3. Rozcieńczenia i kontrolę w zlewkach zaszczyć bakteriami(5 cm<sup>3</sup>).
4. Rozlać rozcieńczenia do butelek tlenówek (po 2 powtórzenia). Butelki wypełnić tak, aby po zamknięciu korkiem nie było w nich pęcherzyka powietrza.
5. W jednej z butelek dla każdego rozcieńczenia oznaczyć zawartość tlenu metodą Winklera w dniu rozpoczęcia eksperymentu.
6. Drugą z butelek z każdego rozcieńczenia inkubować w termoluminostacie 7 dni przy oświetleniu 2500 luxów i temperaturze 20°C. Potem oznaczyć zawartość tlenu metodą Winklera.

### Oznaczanie zawartości tlenu w wodzie metodą Winklera

#### Zasada metody:

W metodzie tej tlen jest wiązany przez siarczan manganawy, kwas siarkowy i zasadowy jodek potasu, co powoduje uwalnianie pierwiastkowego jodu w ilościach proporcjonalnych do ilości tlenu. Jod ten jest miareczkowany tiosiarczanem sodu o znanym stężeniu w celu oznaczenia zawartości tlenu. Przebieg reakcji:



### Wykonanie:

Uwaga: Ilości odczynników podano dla butelki "setki". W przypadku butelki „pięćdziesiątki” ilości odczynników zmniejszyć o połowę.

1. Do badanej próbki w butelce tlenówce dodać  $1\text{ cm}^3$  siarczanu manganawego i  $1\text{ cm}^3$  alkalicznego jodku potasu wprowadzając koniec pipety pod powierzchnię cieczy (tak, aby przy korkowaniu).
2. Ostrożnie zamknąć butelkę korkiem, uważając by nie pozostał pod nim pęcherzyk powietrza.
3. Dokładnie zamieszać przez przekręcanie butelki (minimum 15 razy) i pozostawić w ciemności aż osad opadnie na dno. Brunatne zabarwienie osadu świadczy o dużej zawartości tlenu w próbce, białe - o małej.
4. Rozpuścić osad  $1\text{ cm}^3$  stężonego kwasu siarkowego uważając by nie wypłynął osad.
5. Wymieszać do rozpuszczenia osadu.
6. W cylindrze miarowym odmierzyć  $100\text{ cm}^3$  próby. Przebrać po ściankach do kolby stożkowej i miareczkować  $0,025\text{ N}$  tiosiarczanem sodu wobec  $1\text{ cm}^3$   $0,5\%$  roztworu skrobi do odbarwienia.  $1\text{ cm}^3$   $0,025\text{ N}$  tiosiarczanu sodu odpowiada  $0,2\text{ mg}$  tlenu.

### Opracowanie wyników:

1. Obliczyć zmianę zawartości tlenu w każdej badanej próbce.
2. Sporządzić wykres zależności intensywności fotosyntezy i oddychania od stężenia badanej trucizny. Dodać linię trendu.
3. Wyciągnąć wnioski: Czy badana substancja hamuje intensywność fotosyntezy i oddychania? Który z tych procesów jest silniej hamowany?

## **Zadanie 2. Wpływ zanieczyszczenia gleby na naturalne procesy rozkładu na przykładzie celulozy (sączki bibułowe)**

### Materiały:

wilgotna gleba kontrolna i wilgotne gleby skażone różnymi substancjami (np. olej napędowy, herbicyd, fungicyd, insektycyd – jednorazowe nasączenie cieczą użytkową o stężeniu zalecanym przez producenta, wilgotna gleba nieodpowiadająca standardom jakości pobrana z natury,

małe doniczki albo inne pojemniki na glebę, sączki bibułowe

### Wykonanie:

#### W dniu rozpoczęcia eksperymentu (pierwsze zajęcia):

1. Doniczki opisać nazwami substancji skażających glebę.
2. Doniczki wypełnić glebami zgodnie z opisem na doniczkach.
3. W każdej z doniczek umieścić sączek bibułowy, przysypując go warstwą gleby grubości ok. 0,5 cm.
4. Glebę w doniczkach podlać wodą wodociągową (jest wystarczająco sterylna do tego celu).
5. Doniczki przykryć szkiełkami zegarkowymi albo szalkami Petriego (denka lub wieczka)

#### W dniach kolejnych zajęć przez cały czas trwania eksperymentu:

1. W miarę potrzeby podlewać glebę w doniczkach wodą wodociągową, tak by utrzymywać jej wilgotność.

#### W dniu zakończenia eksperymentu (ostatnie, ew. przedostatnie zajęcia)

1. Ze wszystkich doniczek wyjąć sączki bibułowe.
2. Określić przybliżony ubytek powierzchni sączka w procentach.
3. Wyniki ze wszystkich zespołów badawczych w grupie laboratoryjnej zebrać na tablicy, traktując je jak wyniki powtórzeń jednego eksperymentu.
4. Obliczyć wartości średnie wyników odpowiadających tym samym wariantom eksperymentu.
5. Wyciągnąć wnioski: uszeregować badane substancje wg stopnia hamowania przez nie procesu rozkładu celulozy przez mikroorganizmy glebowe.

### **Zadanie 3. Wpływ zanieczyszczeń na skład gatunkowy zespołów organizmów i możliwość wykorzystania tego zjawiska w bioindykacji (skała porostowa)**

#### Materiały:

skała porostowa,  
porosty

#### Wykonanie:

Posługując się skalą porostową określić strefę zanieczyszczenia SO<sub>2</sub> na badanym terenie (dla celów dydaktycznych można przyjąć, że prezentowane porosty zostały zebrane na terenie badanym).

Zasady posługiwania się skalą porostową:

1. Obejrzyj zdjęcia porostów i glonów, zwróć uwagę na ich kształt, wielkość oraz barwę;
2. Poszukaj porostów na korze drzew liściastych rosnących w terenie, który badasz;
3. Znalezione porosty porównaj z przedstawionymi na zdjęciach skali;
4. Odczytaj i zanotuj maksymalne stężenie SO<sub>2</sub>, przy jakim jeszcze występują znalezione porosty oraz numer strefy zanieczyszczenia;
5. Powtórz obserwacje porostów na innych drzewach rosnących w pobliżu - to pozwoli Ci dokładniej określić stopień zanieczyszczenia powietrza dwutlenkiem siarki

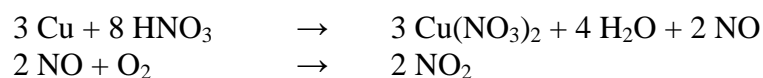
### **Zadanie 4. Zatrucia ostre jako skutki katastrof naturalnych i przemysłowych: zatrucie ostre roślin kwaśnymi gazami (dwutlenek siarki, tlenki azotu)**

Materiały: eksykatory, krystalizatory z uprawą hydroponiczną rzeżuchy, naczynko wagowe, łyżeczka metalowa do spalań, stężony kwas azotowy, opiłki miedziowe, siarka

#### Wykonanie:

1. Przygotować trzy eksykatory.
2. Do każdego z nich wstawić krystalizator z uprawą hydroponiczną rzeżuchy.
3. Eksykator z hodowlą kontrolną zamknąć.
4. Do drugiego eksykatora wprowadzić łyżeczkę z palącą się siarką. Eksykator zamknąć niezwłocznie po spaleniu siarki i usunięciu łyżeczki.
5. Do trzeciego eksykatora wstawić naczynko wagowe ze stężonym kwasem azotowym. Do naczynka wsypać opiłki miedziowe. Eksykator zamknąć.
6. Zaobserwować reakcję roślin i orientacyjny czas, po jakim ona nastąpi.

W wyniku spalania siarki w drugim eksykatorze powstaje dwutlenek siarki. W trzecim eksykatorze miedź reaguje ze stężonym kwasem azotowym z wydzielaniem bezbarwnego tlenku azotu. W wyniku reakcji tlenku azotu z tlenem atmosferycznym powstaje brunatny dwutlenek azotu:



#### **Zadanie 5. Zatrucie ostre muszek owocowych dymem tytoniowym.**

**Materiały:** kolby z rurkami, cygarniczki szklane, sproszkowane liście tytoniu (papieros), kolby z muszkami owocowymi, gruszki gumowe

#### **Wykonanie:**

1. Do cygarniczki włożyć porcję tytoniu, podpalić i wciągnąć powietrze gruszką gumową umieszczoną po przeciwnej stronie, aż do napełnienia się kolby dymem.
2. Zwrócić uwagę na zachowanie muszek oraz czas po którym następuje ich śmierć po kontakcie z dymem tytoniowym.

#### **Zadanie 6. Ilustracje i okazy roślin narażonych na katastrofalne zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego**

Materiały: okazy i zdjęcia

#### Wykonanie:

Obejrzyć okazy i zdjęcia przedstawiające objawy choroby przemysłowej drzewostanów. Wykonać rysunki.

1. Przerzedzenie korony drzewa iglastego o zimozielonych liściach
2. Suchoczub
3. Żółknięcie i brunatnienie igieł
4. Plamistość liści
5. Deformacje i niedorozwój liści