



Использование беспозвоночных животных в системе оценки опасности отходов производства для окружающей природной среды.

Камлюк Светлана Николаена – ст. науч. сотр. лаборатории профилактической и экологической токсикологии, канд. биол. наук
Соавторы: Ильюкова И.И., Борис О.А., Гомолко Т.Н.

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»
Министерства здравоохранения Республики Беларусь
220012, г. Минск, ул. Академическая, 8
тел. (+375 17) 3477370 e-mail: toxlab@mail.ru

Материалы и методы исследований

Тест-модели для оценки экотоксичности отходов производства:

Ресничные инфузории *Tetrahymena pyriformis*

Дождевые черви *Eisenia foetida*

Кладки пресноводного моллюска *Lymnaea stagnalis*

Фитотест (основан на оценке длины корешков проростков семян)

Методы исследований:

- ❖ Инструкция по применению «Метод экспериментального определения токсичности отходов производства» № 044-1215 от «07» апреля 2016 г.

Токсичность отходов на *Eisenia foetida*

EISENIA FOETIDA



Критерии классификации отходов по результатам оценки токсичности на *Eisenia foetida*

Показатель	Степень и классы опасности отходов				
	опасные				неопасные
	1-й класс	2-й класс	3-й класс	4-й класс	
Токсичность в тест-модели <i>E. foetida</i> , LC ₅₀	≤ 0,1	> 0,1 – 1,0	1,1 – 50,0	≥ 50,0	отсутствие

Исследование токсичности отходов на *Tetrahymena pyriformis*

При проведении острого и подострого экспериментов из суспензии образца отходов с исходной концентрацией готовят серию разведений

По истечении срока инкубации в счетной камере Фукса-Розенталя определяли гибель инфузорий до их фиксации и общее число инфузорий после фиксации.

На основании расчета % летальности проводят оценку основных параметров токсичности:

LD_{16} - доза, вызывающая гибель 16% особей;
 LD_{50} - доза, вызывающая гибель 50% особей;
 LD_{84} - доза, вызывающая гибель 84% особей;
 $K_{кум}$ - коэффициент кумуляции как частное между средней смертельной дозой, полученной в подостром эксперименте и средней смертельной дозой, полученной в остром эксперименте.

Критерии классификации отходов по результатам оценки токсичности на *Tetrahymena pyriformis*

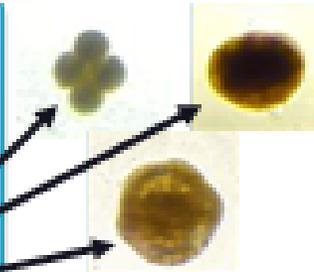
Показатель	Классы по убывающей степени токсичности и опасности			
	1	2	3	4
ЛД ₅₀ , мг/мл	менее 0,1	0,1 – 1,0	1,1 – 20	более 20
Ккум _{ас} , Ккум _{chr.}	менее 0,1	0,10 – 0,30	0,31 – 0,50	более 0,50
ЛД ₅₀ /МНД	более 10 ⁶	10 ⁶ – 10 ⁵	10 ⁵ – 10 ⁴	менее 10 ⁴
МНД, мг/мл	менее 10 ⁻⁶	10 ⁻⁶ – 10 ⁻⁴	10 ⁻⁴ – 10 ⁻¹	более 10 ⁻¹

Эмбриотоксичность на кладках *Lymnaea stagnalis*

Гомогенизация образца отходов

Приготовление модельных сред, содержащих разные концентрации отходов (макс. насыщение 500 мг/мл)

Выбор кладок, содержащих эмбрионы на стадиях **дробления**, **гастролы**, **ранней трохофоры**



Синхронизация кладок (отсечение концевых частей длиной до 3 мм)

3-6 кладки на каждую повторность

кладка

Деление на 6 частей

Контроль
С1
С2
С3
С4
С5

Подсчет изначального количества капсул в каждой чашке (группе)

Инкубация кладок до полного выклева

Подсчет **выклюнувшихся особей моллюска** в каждой чашке (группе)

Расчет **угнетения выклева ОВ** в каждой группе относительно контроля по формуле:

$$УВ(%) = (K - O) / K * 100\%$$

где К и О - % успешного выклева в контроле и опыте



L. Stagnalis
1 ч после выклева

Критерии классификации отходов по результатам оценки токсичности на *Lymnaea stagnalis*

Показатель	Классы опасности отходов			
	1-й	2-й	3-й	4-й
EC ₅₀ , мг/мл	< 0,1	0,1 – 1,0	1,1 – 20	> 20
Пороговая концентрация (EC ₁₅), мг/мл	< 10 ⁻⁴	10 ⁻⁴ – <10 ⁻³	10 ⁻³ – 0,5	> 0,5
EC ₅₀ / EC ₁₅	> 10 ⁴	10 ⁴ – >10 ²	10 ² – 10	-

Исследование токсичности отходов в фитотесте

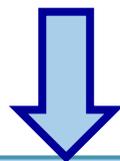
Экстракцию проводят при соотношении образца отходов и дистиллированной воды 1 г:10 мл, экспозиция в течение 3 суток при комнатной температуре

Семена огурцов сорта «Белорусский корнишон F1», редиса сорта «Суперстар», овса сорта «Лидия», высевают по 25 штук в чашки Петри и добавляют экстракт из исследуемого образца отходов в объеме 15 мл

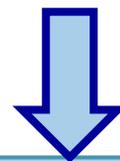
Через 7 суток измеряют длину корешков проростков по корню максимальной длины.

Определяют среднее значение ($L_{\text{ср.}}$) длины корней из трех повторностей на каждой культуре
Сравнивают $L_{\text{ср. опыта}}$ и $L_{\text{ср. контроля}}$ и определяют эффект торможения E_T %.
Оценка результатов: **отходы оказывают фитотоксическое действие при $E_T \geq 20$ % хотя бы в одной из культур семян.**

Установление класса опасности отходов производства по изученным опасным свойствам проводится на основании «наименее благополучного» результата



По результатам на всех задействованных тест-моделях



По результатам оценки в каждой тест-модели

Спасибо за внимание!