

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ  
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

Б1.В.ДВ.06.02 Экологическая безопасность сырья и продуктов животноводства

**Направление подготовки:** 36.03.01 «Ветеринарно-санитарная экспертиза»  
**Профиль образовательной программы:** Ветеринарно-санитарная экспертиза  
**Форма обучения:** очная

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>1. Конспект лекций .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1 Лекция № 1: Понятие о биологической чрезвычайной ситуации.....</b>	<b>3</b>
<b>1.2 Лекция № 2: Лабораторные методы экспертизы продуктов, международные и межгосударственные стандарты по их проведению.....</b>	<b>4</b>
<b>2. Методические указания по проведению практических занятий .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1 Практическое занятие № ПЗ-1: Урбанизация и ее экологические факторы, снижающие качество продуктов.....</b>	<b>7</b>
<b>2.2 Практическое занятие № ПЗ-2: Биологическое заражение.....</b>	<b>11</b>
<b>2.3 Практическое занятие № ПЗ-3: Определение химического состава, пищевой и биологической ценности безопасности продуктов питания.....</b>	<b>12</b>

# 1. КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ

## 1. 1 Лекция № 1 (2 часа)

Тема: «Понятие о биологической чрезвычайной ситуации»

### 1.1.1 Вопросы лекции:

1. Биологическая чрезвычайная ситуация
2. Источники биологической чрезвычайной ситуации

### 1.1.2 Краткое содержание вопросов:

#### 1. Биологическая чрезвычайная ситуация

**Биологическая ЧС** – это ситуация, при которой в результате источника на определенной территории нарушаются нормальные условия жизнедеятельности людей, существования сельскохозяйственных животных и произрастание растений, возникает угроза жизни и здоровью людей, опасность широкого распространения инфекционных болезней, потеря сельскохозяйственных животных и растений.

**Источником биологической ЧС** может служить опасная или широко распространенная инфекционная болезнь людей (эпидемия, пандемия) животных (эпизоотия, панзоотия); инфекционная болезнь растений (эпифитотия, панфитотия) или их вредитель.

*Биологические чрезвычайные ситуации могут быть вызваны:*

- развитием микроорганизмов - прямыми последствиями их деятельности являются болезни людей, животных и растений;
- резким увеличением численности макроорганизмов, преимущественно насекомых - может привести к нарушению биологического равновесия в биоценозах, уничтожении значительных площадей сельскохозяйственных культур.

Насекомые и грызун ни нередко являются переносчиками инфекционных заболеваний. В прошлом крупные хищники серьезно угрожали людям и составляли одну из самых серьезных опасностей.

**Микроорганизмы** - общее название бактерий, актиномицетов и др., за исключением микроскопических водорослей и простейших

Чрезвычайные ситуации, вызванные микроорганизмами, наступают при резком увеличении заболеваемости людей (*эпидемии*) в определенном регионе, что значительно превышает обычный уровень заболеваемости, который регистрируется на этой территории. Эпидемии сопровождают практически все чрезвычайные ситуации, в результате серьезного нарушения жизнедеятельности людей и соответствующего ухудшения санитарного состояния проживания.

#### 2. Источники биологической чрезвычайной ситуации

Источником биологической чрезвычайной ситуации является опасная или широко распространенная инфекционная болезнь людей (эпидемия, пандемия), животных (эпизоотия, анзоотия), растений (эпифитотия, панфитотия) или их вредитель.

Одной из самой опасной и губительной для человека формой проявления биологических природных явлений является эпидемия.

Статистика свидетельствует о том, что инфекционные заболевания в общей сложности унесли больше человеческих жизней, чем все войны. Исторические хроники и летописи донесли до наших времен описания чудовищных пандемий, опустошивших огромные территории и уничтоживших миллионы людей. Число инфекционных заболеваний растет из года в год, появляются все новые, ранее не известные возбудители, источники болезней. Если одни возбудители инфекций стали относительной редкостью в современном мире (оспа, полиомиелит, корь, чума), то другие все больше и больше проявляют себя. Среди последних такие страшные заболевания, как СПИД, боррелиоз (болезнь Лайма), легионеллез и др.

Актуальность изучения массовых заболеваний заключается и в том, что в последние годы непрерывно расширяются экономические, культурные и другие межгосударственные связи. Основными причинами быстрого распространений массовых заболеваний являются: мировая торговля и туристические поездки; высокая урбанизация населения; рост численности населения и активные миграционные движения.

В связи с этим, очень важно знать генезис наиболее распространенных инфекционных заболеваний, соблюдать меры профилактики и выполнять способы противодействия им. Население должно быть в достаточной степени подготовлено к действиям в соответствующей обстановке, знать способы и средства, которые обеспечили бы предупреждение и ликвидацию массовых заболеваний людей, животных и растений.

## **1. 2 Лекция № 2 (2 часа)**

**Тема:** «Лабораторные методы экспертизы продуктов, международные и межгосударственные стандарты по их проведению»

### **1.2.1 Вопросы лекции:**

1. Организация и проведение экспертизы проектов национальных стандартов
2. Проведение экспертизы экспертами
3. Проведение экспертизы проектов межгосударственных стандартов
4. Экспертиза проектов стандартов организаций

### **1.2.2 Краткое содержание вопросов:**

#### **1. Организация и проведение экспертизы проектов национальных стандартов**

Специализированная экспертиза проекта стандарта: Рассмотрение проекта стандарта определенного вида, для которого необходимо углубленное рассмотрение по одному или нескольким видам экспертизы.

Примечание. Примерами специализированной экспертизы являются экспертиза проекта терминологического стандарта и специализированная метрологическая экспертиза проекта стандарта на методы контроля (испытаний, измерений, анализа).

Эксперт по стандартизации: Специалист, который обладает компетентностью, необходимой для проведения экспертизы стандартов, и имеет сертификат соответствия эксперта в системе добровольной сертификации персонала, зарегистрированной Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии.

Примечание. Для целей настоящего стандарта под экспертами по стандартизации понимаются также специалисты национального органа по стандартизации, члены технических комитетов и специалисты, имеющие длительный опыт работы в организациях, функционирующих в области стандартизации, если эти специалисты уполномочены для осуществления деятельности в качестве экспертов по стандартизации национальным органом по стандартизации в устанавливаемом им порядке.

#### **Передача проекта стандарта в технический комитет**

На этапе передачи проекта стандарта от разработчика в технический комитет проводят входной контроль (нормоконтроль).

При этом рассматривают:

- соответствие наименования проекта стандарта наименованию стандарта в Программе (если стандарт включен в данную программу);
- соответствие проекта стандарта требованиям ГОСТ Р 1.5;
- правильность присвоения кодов по ОК (МК (ИСО/ИНФКО МКС) 001-96) 001, ОК 002, ОК 004, ОК 005.
- соответствие предлагаемой даты введения с датами введения взаимосвязанных стандартов;

- наличие опубликованных уведомлений о разработке стандарта и завершении публичного обсуждения проекта стандарта.

Употребляемые в проекте стандарта наименования сырья, материалов и изделий проверяют на соответствие наименованиям данной продукции в действующих в Российской Федерации национальных и межгосударственных стандартах, а также наименования технологических процессов - на соответствие стандартам Единой системы технологической подготовки производства и стандартам, регламентирующими данные технологические процессы.

### **Проведение экспертизы техническими комитетами**

Экспертизу проекта стандарта техническим комитетом проводят на этапе подготовки окончательной редакции проекта стандарта по ГОСТ Р 1.2 (подраздел 4.3). При этом члены технического комитета рассматривают проект стандарта и проводят его научно-техническую экспертизу.

Примечание. В случае отсутствия такого технического комитета его функции выполняет организация, назначенная национальным органом по стандартизации.

В научно-технической экспертизе проекта стандарта могут принять участие (на добровольной основе) члены технического комитета, для которых тематика рассматриваемого проекта стандарта не является объектом их непосредственной деятельности в техническом комитете (другие подкомитеты или рабочие группы), а также организации и физические лица, не являющиеся членами данного комитета.

Если предмет стандартизации затрагивает область деятельности других технических комитетов, ответственные секретари этих технических комитетов имеют право затребовать разрабатываемый стандарт и провести его экспертизу в своих технических комитетах. Результаты этой экспертизы, оформленные в виде сводки замечаний и предложений, должны быть представлены до обсуждения окончательной редакции проекта стандарта техническим комитетом, указанным в Программе, и рассмотрены во время этого обсуждения.

Технический комитет должен стремиться к тому, чтобы по проекту стандарта были приняты решения, устраивающие как всех или большинство членов данного технического комитета, так и разработчика, а также другие заинтересованные организации.

По результатам обсуждения проекта стандарта в техническом комитете разработчик осуществляет корректировку окончательной редакции проекта стандарта и сводки замечаний и предложений. Результаты обсуждения проекта стандарта и голосования по нему отражают в протоколе заседания технического комитета.

### **Передача проекта стандарта в национальный орган по стандартизации**

При передаче проекта стандарта в национальный орган по стандартизации секретариат технического комитета (организация, которой поручено проведение экспертизы) готовит заключение об утверждении или отклонении проекта стандарта, которое подписывают председатель и ответственный секретарь технического комитета (руководитель организации). Данное заключение передают в национальный орган по стандартизации вместе с проектом стандарта и другими документами, перечень которых определен ГОСТ Р 1.2.

При необходимости национальный орган по стандартизации может организовать проведение любой дополнительной экспертизы проекта стандарта.

### **Проведение экспертизы экспертами**

Разработчик представляет заявку на разработку национального стандарта в Программу разработки национальных стандартов (далее - Программа) и при этом указывает технический комитет для экспертизы проекта стандарта.

Технический комитет с начала разработки проекта стандарта назначает по согласованию с разработчиком эксперта по стандартизации (далее - эксперт), а также, при необходимости, организацию для проведения специализированной экспертизы. В случае необходимости назначаются экспертизы специализированных видов. В случае

затруднения с выбором технического комитета и/или эксперта, например, по причине их отсутствия для данной области стандартизации, национальный орган по стандартизации выбирает один из вариантов:

- назначает эксперта в близкой области стандартизации;
- назначает с участием разработчика для проведения экспертизы организацию из близкой области стандартизации.

В случае, если секретариат (ответственный секретарь) технического комитета является разработчиком стандарта, то эксперта (организацию) для проведения экспертизы назначает национальный орган по стандартизации.

Национальный орган по стандартизации проверяет обоснованность выбора технического комитета (соответствие области и предмета стандартизации). Национальный орган по стандартизации имеет право самостоятельно назначить дополнительных экспертов (организации) для экспертизы любого вида, определив при этом источник финансирования данных работ. Назначение дополнительных экспертов может быть осуществлено на любом этапе разработки стандарта.

Эксперт (организация) принимает участие в рассмотрении проекта стандарта с начала его разработки, обеспечивая, по возможности, единые сроки научно-технической экспертизы и экспертизы других видов, чтобы разработчик мог учесть все замечания до обсуждения окончательной редакции проекта стандарта техническим комитетом. Замечания эксперта (организации) и реакция разработчика на эти замечания, так же, как и на замечания членов технического комитета, других технических комитетов, других юридических и физических лиц должны быть отражены в сводке замечаний и предложений на проект стандарта, которую составляет разработчик стандарта в соответствии с ГОСТ Р 1.2 (приложение А).

Эксперт (организация) проводит экспертизу стандарта в соответствии с правилами, приведенными в разделе 8.

Результатом экспертизы проекта стандарта является заключение о возможности утверждения национального стандарта. Эксперт (организация, которой поручено проведение экспертизы) готовит данное заключение по форме, приведенной в Приложении А. Заключение подписывает эксперт или руководитель организации, проводившей экспертизу.

### **Проведение экспертизы проектов межгосударственных стандартов**

Экспертизу проекта межгосударственного стандарта осуществляют до его размещения в Системе электронного голосования или отправки проекта стандарта на голосование в другие страны-участницы Соглашения о проведении согласованной политики в области стандартизации, метрологии и сертификации (далее - страны-участницы Соглашения). Если в процессе голосования стран-участниц Соглашения по проекту межгосударственного стандарта получены замечания технического характера, то окончательная редакция данного проекта, доработанная с учетом этих замечаний, подлежит повторной экспертизе с участием членов технического комитета.

### **Экспертиза проектов стандартов организаций**

Порядок организации и проведения экспертизы проекта стандарта организации определяют в договоре между организацией, ведущей секретариат технического комитета, и организацией, утверждающей данный стандарт, или организацией, разработавшей его проект.

## 2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ

### **2.1 Практическое занятие № 1 (2 часа).**

**Тема:** «Урбанизация и ее экологические факторы, снижающие качество продуктов»

#### **2.1.1 Задачи работы:**

1. Биогенные загрязнители.
2. Техногенные загрязнители

#### **2.1.2 Краткое описание проводимого занятия:**

Основная масса организмов Мирового океана сосредоточена у берегов, преимущественно в зоне морских побережий – прибрежное «сгущение жизни», по В.И. Вернадскому. В водной среде содержится большое количество мелких частиц органического вещества – детрита (от лат. *detritus* – истертый), образованного из отмирающих растений и животных. Массы этих частиц оседают на бактериях и благодаря выделяющемуся в результате бактериального разложения газу постоянно находятся в толще воды во взвешенном состоянии.

Известно, что из сбрасываемых загрязняющих веществ наибольший суммарный ущерб биоресурсам наносят соединения, не обладающие специфическими токсическими свойствами, – органические вещества, неорганические биогенные компоненты (соединения фосфора и азота) и жиры (Христофорова, Саломай, 2006). На минерализацию органических веществ, особенно жиров, требуется большое количество кислорода. Обилие биогенных элементов вызывает эвтрофикацию и также потребление кислорода на разложение отмирающего фитопланктона.

С использованием синтетических моющих средств, а также с применением эмульгаторов и пестицидов связано поступление полифосфатов в среду. Полифосфаты легко разлагаются и их концентрации в воде быстро снижаются. Появление органических фосфатов в природных водах обусловлено процессами жизнедеятельности и посмертного распада водных организмов, а также хозяйствственно-бытовыми стоками и стоками от животноводческих ферм. Избыточное поступление фосфатов в прибрежные воды сопровождается «цветением» планктонных водорослей, в том числе сине-зеленых, на разложение которых расходуется растворенный кислород. Кроме того, прижизненные и посмертные выделения сине-зеленых водорослей загрязняют воду токсичными веществами, что угнетающее действует на экосистемы, вызывает гибель многих гидробионтов и, в конце концов, пагубно влияет на здоровье человека. Обычно максимальные концентрации органических и минеральных веществ в водоемах наблюдаются ранней весной, что связано с поверхностным смывом с суши и поступлением их из донных отложений. С повышением температуры воды и развитием производственных процессов наблюдается увеличение концентраций органического вещества.

Известно, что чрезвычайно важную роль в начальных этапах расщепления органических субстратов, в круговороте биогенных элементов играют микроорганизмы, выделяющие в среду гидролитические ферменты (Заварзин, Колотилова, 2001). В средах, загрязненных органическими веществами, возрастает количество микрофлоры, утилизирующей соответствующие субстраты, и численность этих микроорганизмов может быть показателем степени органического загрязнения среды (Исследования экосистем, 1992).

Высокая численность индикаторных бактерий, выявляется в речных стоках, особенно в местах их впадения в морскую среду, где часто наблюдаются максимальные концентрации органических веществ (Ковалева, 2003). Присутствие высокой численности

индикаторной микрофлоры в природных водах свидетельствует о наличии легкоразлагающихся органических веществ, таких как липиды, белки и углеводы.

Биохимическая активность липополитической микрофлоры, концентрирующейся в области поверхностной пленки, способствует освобождению поверхностных вод от жирных веществ и нормализует газо- и теплообмен между водной поверхностью и атмосферой. Наибольшая частота встречаемости и максимум численности липополитической микрофлоры в воде приурочен в основном к приустьевым и прибрежным участкам и заливам, где наблюдается максимальное загрязнение. По мере продвижения от прибрежных и приустьевых участков к открытой акватории численность липополитических бактерий снижается на два - три порядка (Цыбань, Теплинская, 1974; 1982).

Амилолитические бактерии являются индикаторами присутствия в водной среде полисахаридов. Способность к расщеплению крахмала при помощи амилолитических экзоферментов распространена у многих микроорганизмов очень широко. Многие почвенные грибы – активные продуценты амилазы. Среди бактерий к активным продуцентам амилаз относят некоторые бациллы (*Bacillusmacerans*, *B. subtilis*), псевдомонады и различные виды стрептомицетов (Динамика экосистем..., 2000).

Микроорганизмы протеолитики являются индикаторами присутствия в водной среде веществ белковой природы: казеина, желатина, коллагена и т.д. Способностью расщеплять пептиды и белки обладают ряд микроорганизмов: Протеолитические бактерии (бактериоиды, протей, эшерихии, клостридии и др.) используют в качестве питательного субстрата белок и продукты его гидролиза, вызывая гнилостные процессы, конечными метаболитами которых являются аммиак, ароматические аминокислоты, эндогенные канцерогены, сульфиды и др.

Микроорганизмы, обладающие высокой гидролитической активностью в отношении разрушения органических веществ природного и антропогенного характера, играют важную роль в самоочищении среды (Цыбань, Панов, Баринова, 1990; Кондратьева, 1996). Высокой гидролитической активностью при биогенном загрязнении обладают цианобактерии.

Наиболее активными продуцентами гидролаз в морской среде являются бактерии родов *Vibrio*, *Bacillus*, *Pseudomonas–Alteromonas* (Иванова, Михайлов, 1992). Бактерии, ассоциированные с морскими прикрепленными организмами: губками *Spirastrella* sp., *Phyllospongia* sp., *Ircinia* sp., *Aaptos* sp., *Azorica* sp. and *Axinella* sp. и кораллами *Lobophytum* sp. синтезируют высокоактивные протеазы, амилазы и карбоксиметилцеллюлазы. Они могут являться источниками получения этих ферментов. Широкий спектр активности гидролаз обнаружен у бактерий р. *Pseudoalteromonas* и отмечена разница в уровне активности и наборе экзоферментов у штаммов различной видовой принадлежности, а также изолированных из различных мест обитания

### Техногенные загрязнители

**Нефтеокисляющие микроорганизмы.** Частично появление нефтеуглеводородов (НУ) связано с природными процессами, но их концентрация увеличивается во многих береговых экосистемах, как прямое следствие деятельности человека. Микробные сообщества могут трансформировать НУ в промежуточные метаболиты или минерализовать в диоксид углерода и воду. Уровень и протяженность деградации зависит от физико-химических свойств индивидуальных составляющих НУ и их взаимодействия с живыми и неживыми компонентами береговой экосистемы.

Нефтеокисляющая микрофлора разнообразна, представлена как бактериями, самой многочисленной по генофонду группой, так и грибами, и отличается по активности в разложении нефти и ее углеводородов. Среди нефтеокисляющих бактерий с высокой активностью можно выделить грамположительные коринеформные бактерии (*Mycobacterium*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter* и др.), представителей рода *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*. Что касается нефтеокисляющих дрожжей, приуроченных, главным образом, к поверхностным слоям вод, то большинство их

относится к родам *Candida*, *Rhotorula* и *Trichosporon*, реже активны представители родов *Debaryomyces*, *Endomyces*, *Pichia*, *Torulopsis*. Дрожжи окисляют в основном парафиновую фракцию нефти. В морских и пресноводных экосистемах встречаются практически одинаковые представители, разлагающие углеводороды нефти. Среди мицелиальных грибов наиболее активно окисляют нефть представители родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* и *Cladosporium*.

Окисление ароматических углеводородов не является свойством рода или вида микроорганизмов, это штаммовый признак. Так, на фоне общего угнетающего действия токсиканта появляются штаммы, способные его расщеплять, которые, вероятно, являются естественными мутантами. Если парафины – субстрат, легко окисляемый нормальными микроорганизмами биоценоза, то ароматические углеводороды окисляются, скорее всего, мутантами, а вовлечение их в круговорот является сложным и болезненным для микробиоценоза процессом.

Высокая численность фенолокисляющих бактерий может быть связана с деятельностью расположенных на берегу промышленных и портовых комплексов, которые оказывают непосредственное влияние на загрязнение вод фенолами. В урбанизированных районах прибрежная морская среда почти повсеместно загрязнена разнообразными соединениями фенольной природы, такими как моно- и дифенилы, бифенилы, а также их галогенпроизводными, в том числе пестицидами.

Одним из главных источников фенольного загрязнения прибрежной зоны моря зачастую являются лесоперерабатывающие предприятия – фанерные, целлюлозно-бумажные, где основными компонентами сточных вод являются фенол, пирагаллол, ксиленолы, крезолы и т.д. Фенолы в значительном количестве содержатся в каменноугольной смоле и образуются при распаде нефтепродуктов. Фенолы широко используются в промышленности для получения смол, полиамидов, поверхностно-активных веществ, антиоксидантов. В связи с резко возрастающим влиянием бытовых стоков на качество прибрежной среды особое негативное влияние имеют фекальные стеролы. Эти соединения даже в незначительных концентрациях могут вызывать сильные токсические эффекты или гибель морских организмов.

Большое скопление водных растений также является источником естественного метаболитного фенола, поступающего в среду. Уровень чувствительности разных организмов к фенольным соединениям неодинаков. Даже близкородственные особи могут очень отличаться по своей реакции на один и тот же токсикант. Особенно чувствительны к фенольному загрязнению нейстонные организмы, к которым относятся многие популяции морских организмов на ранних стадиях онтогенеза, а также обильное микробное население, играющее важную роль в трансформации органических соединений. Известно, что морская среда самоочищается от фенольного загрязнения. Наиболее активными и часто единственными деструкторами фенола являются микроорганизмы, которые одновременно могут служить индикаторами присутствия данного поллютанта в море. Состав фенолустойчивых бактериальных сообществ морской воды и донных осадков близок к составу микрофлоры активных илов очистных сооружений, адаптированной к продукту деградации фенола – пирокатехину.

Попадание фенола в водную среду ведет к быстрому формированию в местах сбросов высокоустойчивого бактериального сообщества в воде и донных осадках. В работах Л.М. Кондратьевой и Е.А. Каретниковой (2000) показано, что численность фенолрезистентных бактерий является индикатором загрязнения водных экосистем фенольными соединениями различного происхождения, однако не может служить критерием самоочищающей способности водных экосистем.

Методы микробной индикации дают возможность выявить и контролировать появление фенолов в морской среде гораздо раньше, чем происходят необратимые токсические эффекты у гидробионтов.

В качестве микроорганизмов-индикаторов фенолсодержащих вод используются грибы *Aspergillus*, *Penicillium*.

Критерии оценки нефтяного и фенольного загрязнения на основании микробных показателей.

Для микробиологических показателей не существует предельно допустимых концентраций, как в химических экологических методах. Но, для того, чтобы дать оценку полученному результату, необходимо сравнивать данные, полученные для исследуемого района, с данными контрольного района (заранее выбранный фоновый, чистый район для сравнительного исследования). Как правило, если нет источника поступления нефти в среду, нет и микроорганизмов, расщепляющих этот субстрат.

Наличие фенол- и углеводородокисляющих бактерий в количествах, превышающих 102-103 клеток/мл, указывает на ту или иную степень загрязнения этими веществами.

### **Металлоустойчивые микроорганизмы**

Настоящими рекордсменами по извлечению металлов из окружающей среды являются микроорганизмы – бактерии, плесени, микроскопические водоросли, обитающие в почве, пресноводных водоемах и морской воде. Плесневые грибы аспергиллы содержат до 0,3% меди – в 30 000 раз больше, чем в окружающей среде. Многие микроорганизмы в больших количествах накапливают уран: пресноводная микроводоросль хлорелла – до 0,4% сухой массы, актиномицеты – до 4,5%, денитрифицирующие бактерии – 14%, а специально отобранные культуры дрожжей или псевдомонад – до 50%. Тяжелые металлы даже в ничтожных концентрациях ядовиты. Проникая в живые клетки, они нарушают их жизнедеятельность, но свое токсическое действие тяжелые металлы проявляют только в виде ионов. Если же их тем или иным способом перевести в связанную форму, то они лишаются токсических свойств. Установлено, что недиссоциированные соли и ионы, образующие комплексы, обычно менее токсичны, чем свободные ионы в тех же концентрациях. Таким образом, металл, отложенный в клеточной стенке в кристаллическом виде или в виде плохо растворимых соединений, оказывается безвредным для микробы.

Тяжелые металлы играют двоякую роль в процессах жизнедеятельности организмов. Mg, Cu, Ni, Zn – важные микроэлементы. Cd, Pb, Sn, Ag, Hg – токсичны. При высокой концентрации все металлы вредны для организма, так как они способны:

1. Изменять конформацию и структуру нуклеиновых кислот, белка,
2. Ингибировать активность ферментов;
3. Влиять на осмотический баланс клетки;
4. Влиять на энергетический баланс клетки.

Известны два пути поступления тяжелых металлов в клетку микроорганизма: неспецифический транспорт по градиенту концентрации и специфический транспорт белка с АТФ. У микроорганизмов существуют специальные механизмы для предотвращения токсического воздействия металлов:

1. Активное выведение или выброс металла из клетки.
2. Снижение поступления металла за счет изменения проницаемости клеточной мембрany. Нарушение синтеза белка порина.
3. Внутриклеточное связывание токсичных металлов, их детоксикация.
4. Внутриклеточная изоляция металлов за счет капсулы.

Для выделения металлоустойчивых микроорганизмов определяют спектр металлов необходимых для эксперимента: Cd, Pb и Ni маркеры техногенного воздействия; Cu и Zn – комплексного антропогенного действия; Fe – терригенного влияния; Co и Cs – как маркеры возможного радиоактивного загрязнения. В качестве селективных добавок, ингибирующих рост чувствительных форм бактерий, используются растворимые соли металлов – хлориды Cu, Cd, Co, Cs, Ni, Zn, Fe и нитрат Pb.

Уровень индивидуальной устойчивости бактериальных штаммов к ионам тяжелых металлов оценивают на основе определения минимальной ингибирующей концентрации

(МИК) соли каждого металла. МИК определяют как наименьшую концентрацию токсиканта в среде, которая при определенных условиях полностью ингибитирует рост бактерий

**2.1.3 Результаты и выводы:** изучили понятия об урбанизации и ее экологические факторы.

## **2.2 Лабораторная работа № 2 (2 часа).**

**Тема:** «Биологическое заражение»

### **2.2.1 Задачи работы:**

1. Понятие о биологическом заражении
2. Виды биологического заражения

### **2.2.2 Краткое описание проводимого занятия:**

1. В результате попадания в окружающую среду опасных биологических средств (авария, случайное заноса возбудителя болезни или применения биологического оружия) и распространения на местности болезнетворных микробов, токсинов, опасных вредителей могут образоваться зоны биологического заражения и очаги биологического поражения.

2. Биологические средства принадлежат к средствам массового заражения и поражения людей, животных, растений и заражения объектов внешней среды

3. Зона биологического заражения - это территория, зараженная биологическими возбудителями заболеваний в опасных для людей, животных или растений пределах

4. Возбудители инфекционных болезней могут распространяться, увеличивая зону заражения, людьми, насекомыми, особенно кровососущими, животными, грызунами, птицами. Заражаться могут люди, сельскохозяйственные животные и птица, дикие звери и птицы, воздух, местность, водоемы, колодцы, резервуары с питьевой водой, фураж, сельскохозяйственные посевы, запасы урожая, продукты питания, техника, производственные помещения пастбища и жилые помещения.

5. Зона заражения характеризуется видом биологических средств, размерами, расположением относительно объектов хозяйствования, времени образования, степени опасности и изменением со временем. Размеры ячейки биологического заражения зависят от типа, вида болезнетворных микробов или вредителей растений, их количества, условий попадания и размножения в окружающей среде, метеорологических условий, скорости их обнаружения с военачальности проведения профилактических и лечебных мероприятий.

6. Очаг биологического поражения - это территория, на которой в результате воздействия биологических средств (оружия противника) возникли массовые поражения людей, сельскохозяйственных животных, растений. Он может образоваться не только в зоне заражения, но и за ее пределами, как результат распространения инфекционных заболеваний. Очаг биологического поражения характеризуется видом биологических средств, количеством пораженных людей, тока воды, растений, продолжительности действия повреждающего свойств возбудителей хвостосередку поражения.

7. На основе обобщения данных, полученных от санитарно-эпидемиологических станций, ветеринарно-бактериологических лабораторий, станций защиты растений, медицинскими службами гражданской защиты и службами защиты животных и растений устанавливаются границы зоны биологического заражения и очаги поражения.

8. Основой ячейки биологического поражения могут быть болезнетворные микробы, их токсины, а также наиболее опасные вредители растений

Действие биологического заражения основано на использовании болезнетворных свойств микроорганизмов (бактерий, риккетсий, грибков, а также вырабатываемых некоторыми бактериями токсинов).

В состав биологического заражения входят рецептуры болезнетворных микроорганизмов.

Основным признаком биологического заражения являются симптомы и проявившиеся признаки массового заболевания людей и животных, опасные для их жизни, что окончательно подтверждается лабораторными исследованиями.

В качестве биологических средств могут быть использованы возбудители различных инфекционных заболеваний: чумы, сибирской язвы, бруцеллеза, сапа, туляремии, холеры, желтой и других видов лихорадки, весенне-летнего энцефалита, сыпного и брюшного тифа, гриппа, малярии, дизентерии, натуральной оспы и др.

Поражения животных наряду с возбудителями сибирской язвы и сапа возможно в результате применение вирусов ящура, чумы рогатого скота и птиц, холеры свиней и др.;

Заражение людей и животных происходит в результате вдыхания зараженного воздуха, попадания микробов или токсинов на слизистую оболочку и поврежденную кожу, употребления в пищу зараженных продуктов питания и воды, укусов зараженных насекомых и клещей, соприкосновения с зараженными предметами, ранения осколками боеприпасов, снаряженных биологическими средствами, а также в результате непосредственного общения с больными людьми (животными). Ряд заболеваний быстро передается от больных людей к здоровым и вызывает эпидемии (чумы, холеры, тифа, гриппа и др.).

### **Виды биологического заражения**

К основным средствам защиты населения от биологического заражения относятся: вакцино-сывороточные препараты, антибиотики, сульфамидные и другие лекарственные вещества, используемые для специальной и экстренной профилактики инфекционных болезней, средства индивидуальной и коллективной защиты, используемые для обезвреживания возбудителей химические вещества.

Очагом биологического заражения считаются города, населенные пункты и объекты народного хозяйства, подвергшиеся непосредственному воздействию бактериальных (биологических) средств, создающих источник распространения инфекционных заболеваний. Его границы определяют на основе данных биологической разведки, лабораторных исследований проб из объектов внешней среды, а также выявлением больных и путей распространения возникших инфекционных заболеваний. Вокруг очага устанавливают охрану, запрещают въезд и выезд, а также вывоз имущества.

Для предотвращения распространения инфекционных заболеваний среди населения в очаге поражения проводится комплекс противоэпидемических и санитарно-гигиенических мероприятий:

- экстренная профилактика;
- санитарная обработка населения;
- дезинфекция различных зараженных объектов.

При необходимости уничтожают насекомых, клещей и грызунов (дезинсекция и дератизация).

**2.2.3 Результаты и выводы:** изучили понятия о биологическом заражении и разобрали его виды.

## **2.3 Практическое занятие № 3 (2 часа).**

**Тема:** «Определение химического состава, пищевой и биологической ценности безопасности продуктов питания»

### **2.3.1 Задачи работы:**

1. Определение общей ртути в мясе, мясопродуктах, яйцах, рыбе, молочных продуктах.

2. Место определения фосфорорганических пестицидов с помощью тонкослойной хроматографии

3. Определение химического состава, пищевой и биологической ценности безопасности продуктов питания.

4. Ветеринарно-санитарное исследование солонины и солено-копченых изделий на свежесть

### **2.3.2 Краткое описание проводимого занятия:**

*Принцип метода.* Метод основан на деструкции анализируемой пробы смесью азотной и серной кислот в присутствии этилового спирта и дальнейшем определении ртути колориметрическим способом или при помощи тонкослойной хроматографии.

*Колориметрическое определение* основано на осаждении ртути йодидом меди или на экстракции ее дитизоном и последующем визуальном колориметрическом определении в виде тетрайодомеркуроата меди путем сравнения со стандартной шкалой.

Диапазон определения концентраций 0,25-2,00 мкг в колориметрируемом объеме. Предел обнаружения 0,25 мкг, или 0,125 мг/кг.

Метрологическая характеристика колориметрического метода определения общей ртути, основанного на осаждении ее из деструктата йодидом меди

**ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЙ.** В склянку с деструктатом добавляют при помешивании раствор марганцовокислого калия в количестве, обеспечивающем полное окисление исследуемого образца (от 15 до 20 см<sup>3</sup>), или примерно 1 г порошка (раствор должен приобрести коричневую окраску) и оставляют пробу на 5-10 мин.

Для удаления избытка марганцовокислого калия к пробе добавляют не менее 5 см<sup>3</sup> раствора или несколько кристаллов гидроксиламина гидрохлорида (раствор должен стать совершенно прозрачным).

Если при анализе происходит вспенивание образца, для гашения пены перед добавлением двуххлористого олова в склянку вносят одну каплю силиконового масла.

В склянку приливают 5 см<sup>3</sup> раствора двуххлористого олова и сразу вводят барботер (аэратор). Ртуть, испаряясь, циркулирует по системе аэратора. Количество ее определяется по шкале прибора при длине волны 253,7 нм.

**ПОДГОТОВКА ПРОБ.** 200-250 г исследуемого продукта тщательно измельчают (зерновые размалывают) и перемешивают. Пиво перед деструкцией освобождают от двуокиси углерода, для чего 250-300 см<sup>3</sup> пива наливают в коническую колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup>, доводят до температуры (20±1) °С на водяной бане, закрывают пробкой с одним отверстием, через которое пропущена трубка для выхода газа, закрепляют в аппарате для встряхивания и встряхивают в течение 20-30 мин.

**ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЙ.** В колбу с охлажденным деструктатом, приготовленным добавляют взвеси йодида меди. Содержимое колбы перемешивают три раза с интервалом 5 мин и оставляют до полного осаждения осадка. Если образующийся осадок окрашен в ярко-розовый или кирпично-красный цвет, что свидетельствует о содержании ртути в образце более 25 мкг, добавляют еще 15 см<sup>3</sup> и продукты пищевые йодида меди или анализ повторяют, уменьшив навеску образца, соответственно уменьшают и количество реагентов для деструкции.

Через 1 ч максимально возможную часть надосадочной жидкости сливают, стараясь не взмутить осадок, и отбрасывают. К осадку добавляют 15 см<sup>3</sup> раствора сернокислого натрия концентрации 10 г/дм<sup>3</sup>, взбалтывают и переносят на увлажненный водой однослоистый бумажный фильтр ("синяя лента"), плотно уложенный в воронку диаметром не более 35 мм. Края фильтра должны выступать из воронки не более чем на 5 мм. Колбу из-под осадка несколько раз ополаскивают раствором сернокислого натрия концентрации 10 г/дм<sup>3</sup> и сливают на тот же фильтр с тем, чтобы весь осадок был перенесен на фильтр.

Поиск оптимальных методов анализа пестицидов – одна из важнейших проблем аналитической химии. С современных позиций к ним, в первую очередь, относятся капиллярная газовая хроматография (ГХ), высокоэффективная жидкостная хроматография

(ВЭЖХ), тонкослойная хроматография (ТСХ) и капиллярный электрофорез (КЭ). Эти методы обладают высокой разделяющей способностью, необходимой при анализе многокомпонентных образцов, и высокой чувствительностью, позволяющей определять пестициды на уровне концентраций 1 мкг/дм<sup>3</sup> и ниже.

Выбор конкретного метода анализа во многом определяется самой аналитической задачей. К типичным задачам можно отнести следующие:

- определение пестицидов на разных стадиях их производства, приготовления готовых форм, при их хранении;
- определение остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции, в почве и в природных водах;
- определение пестицидов в биологических образцах;
- определение пестицидов в продуктах питания, в атмосфере, в питьевой воде.

Две последние задачи являются наиболее сложными, так как они требуют одновременного определения не заведомо известных веществ, а набора соединений из всего списка применяемых на практике пестицидов, количество которых превышает 1000 названий. Задачи такого типа иногда называют скрининговыми. Их решают, главным образом, с помощью метода ГХ с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС), когда идентификация пестицидов осуществляется по заранее созданной библиотеке масс-спектров.

Учитывая большое разнообразие пестицидов при выборе методов их определения предпочтение, очевидно, надо отдавать «универсальным» методикам. Лаборатория, работающая по принципу «для каждого вещества свой метод анализа», может обеспечить высокую производительность лишь только по отношению к относительно малому количеству веществ. Переход от одной группы пестицидов к другой требует больших затрат времени на перестройку и калибровку приборов, приготовление стандартов и пр. Рассматривая химико-аналитические методы с точки зрения их «универсальности» по отношению к анализу пестицидов, можно сделать следующие замечания.

Метод ТСХ достаточно чувствительный и простой в исполнении, однако в силу своей относительно невысокой разрешающей способности «универсальным» быть не может.

Метод ГХ обладает очень высокой разрешающей способностью, но его применение ограничивается термической лабильностью ряда пестицидов и необходимостью привлекать различные способы химической дериватизации многих пестицидов для повышения их летучести.

Метод капиллярного электрофореза, имея высокую разрешающую способность, не обеспечивает приемлемую концентрационную чувствительность и требует весьма высокую степень концентрирования образца, что часто нельзя осуществить из-за ограниченной растворимости пестицидов.

Метод ВЭЖХ обеспечивает для решения многих задач достаточное разрешение, не требует, как правило, предварительной дериватизации и пригоден для анализа термолабильных пестицидов. В сочетании с ГХ он позволяет решить практически все задачи, и именно эти два метода нашли наибольшее распространение в современной экологической аналитической химии.

Пестициды, как уже говорилось, отнесены к приоритетным экотоксикантам, и поэтому, должны находиться под постоянным контролем в объектах окружающей среды. Мониторинг пестицидов предусматривает их количественное определение в широком интервале концентраций, включающем уровень фона. Среди методов анализа, которые применимы к определению пестицидов, в первую очередь относятся высокоэффективные варианты газовой и жидкостной хроматографии.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – один из самых информативных аналитических методов. Он широко используется во всех развитых странах, но, по сравнению с другими физико-химическими методами анализа, требует

весьма высокой квалификации персонала, а стоимость одного анализа достигает нескольких десятков и даже сотен долларов США. Таким образом, упрощение самой процедуры ВЭЖХ-анализа и снижение ее стоимости предоставляется важной задачей.

Указанные недостатки ВЭЖХ обусловлены тем, что для каждого пестицида (или группы пестицидов) нормативные документы регламентируют свой «универсальный» вариант ВЭЖХ-анализа. Это приводит к необходимости часто перестраивать хроматограф, что занимает много времени и требует определенного опыта. Кроме того, аналитическая лаборатория, выполняющая анализы с привлечением многих разных методик, вынуждена содержать целый склад дорогостоящих колонок, органических растворителей и стандартных образцов пестицидов.

К пестицидам, определяемым в мировой практике методом ВЭЖХ, относятся труднолетучие и термолабильные соединения. К ним относятся атразин, симазин, хлорпрофам, линурон, хлортолурон, алахлор, трифлюоалин.

В анализе пестицидов используются особые методы пробоподготовки, которые предполагают полезным рассмотреть более подробно.

**Жидко-жидкостная экстракция (ЖЖЭ)** – классический способ извлечения пестицидов из водных образцов. Обычно проводят повторяющуюся несколько раз экстракцию из 500–1000 мл водного образца в делительной воронке. Наиболее популярным растворителем является дихлорметан. Он способен экстрагировать соединения с различной полярностью и легко упаривается. Методы Агентства по охране окружающей среды США (EPA US) 8120 и 8140 используют ЖЖЭ с помощью дихлорметана для определения в воде 15 хлорорганических и 21 фосфорорганических пестицидов. Для извлечения гербицидов – производных карбоновых кислот – исходную воду подкисляют до  $pH < 2$  и затем экстрагируют неионизированные молекулы диэтиловым эфиром или дихлорметаном.

Классическая ЖЖЭ трудно автоматизируется, требует больших объемов токсичных растворителей и весьма продолжительна по времени. Разделению слоев растворителей при анализе сильно загрязненных вод часто мешает образование устойчивых эмульсий. В таких случаях рекомендуют одиночную длительную ЖЖЭ делительной воронке объемом 1 л с растворителем, тяжелее воды.

Хотя классическая ЖЖЭ имеет много недостатков, она продолжает совершенствоваться. Так появилась микроЖЖЭ, разработанная как альтернативный метод для определения гербицида алахлор и двух его метаболитов. Принцип микроЖЖЭ – экстракция из большого объема воды (400 мл) очень маленьким объемом растворителя (500 мкл толуола) – может быть применена в качестве подготовки пробы для анализа методом ГХ без стадии испарения, что важно для определения высоколетучих соединений. В сравнении с твердофазной экстракцией этот метод подготовки пробы быстрее и дешевле.

Большое число разных гербицидов (фенилмочевины, триазины, динитроанилины, хлорацетамиды и урацилы) экстрагируют из пищевых продуктов механическим встряхиванием или гомогенизацией с органическими растворителями, такими как метанол, ацетонитрил, часто смешанными с водой дихлорметаном или этилацетатом, иногда при кислом значении  $pH$ .

Высокополярные гербициды, такие как глифосат, нерастворимы в большинстве органических растворителей и их экстрагируют водой или водой с хлороформом, иногда при кислом значении  $pH$ . При этой процедуре другие растворимые в воде компоненты (аминокислоты, аминосахара и др.) экстрагируются также. Их присутствие мешает определению глифосатов и делает необходимой очистку экстрактов, которая чаще всего осуществляется на ионообменных хроматографических колонках.

Бипиридиновые пестициды (дикват и паракват – четвертичные аммониевые соединения) обычно экстрагируют из матриц дефлекмацией или нагреванием с серной или с соляной кислотами, после чего проводят твердо-фазную экстракцию и хроматографию.

*Твердофазная экстракция (ТФЭ)* как метод подготовки образцов известна уже 50 лет. Ее преимущества: экономия времени и растворителей, исключение опасности образования эмульсий, возможность выделения следовых количеств аналита, возможность автоматизации. Особенно часто ТФЭ применяют при анализе природных вод.

ТФЭ активно применяют для определения триазиновых пестицидов и продуктов их распада – гидрокси-*s*-триазинов, гербицидов – производных мочевины, *N*-метилкарбаматов и их полярных метаболитов, хлорорганических и фосфорорганических инсектицидов, полярных пестицидов пиретроидов, триазольных и пиридиновых пестицидов. Разработаны методы ТФЭ многокомпонентных смесей, включающие большое число пестицидов различных классов. Для повышения эффективности экстракции полярных пестицидов иногда применяют колонки со смесью двух сорбентов, например фаз С18 и Фенил.

При ТФЭ кислот на фазах С18 для уменьшения потерь раствор образца целесообразно подкислить до  $\text{pH} < 2$ . Для ТФЭ неионных соединений иногда применяют графитированные сорбенты и фазы, представляющие собой макросетчатые стирол-дивинилбензольные полимеры. Для пестицидов триазиновой группы, производных мочевины и группы феноксикислот успешно используют картриджи с активированной графитированной сажей *Carbopack B*, ионообменные смолы в ацетатной форме и фазу пропил- $\text{NH}_2$ . Для ТФЭ фосфорорганических пестицидов применяют мембранные диски из полистирол-дивинилбензола типа «*XAD*».

*Сверхкритическая жидкостная экстракция (СКЖЭ)* является относительно новым методом, применяемым для извлечения веществ с помощью специальных экстрагентов – «сверхкритических» жидкостей. Такими экстрагентами могут быть жидкие  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ , пропан, бутан и др. Перечисленные газы переходят в жидкое состояние при высоких давлениях, поэтому СКЖЭ проводят в автоклавах. После окончания экстракции давление в автоклавах сбрасывают до атмосферного, газ-экстрагент улетает, и в автоклаве остаются только экстрагированные вещества. Их растворяют в подходящих растворителях и растворы анализируют.

СКЖЭ используется главным образом для анализа различных классов пестицидов в почвах, тканях животных и растений. Регулируют эффективность экстракции путем добавок к экстрагенту других растворителей. Наиболее распространенный сорастворитель, добавляемый к углекислоте – метанол. Его добавление позволяет преодолеть матричные эффекты, когда пестициды, прочно связанные с матрицей, чистой углекислотой не экстрагируются. Кроме этого, добавка метанола или ацетона повышает растворимость в углекислоте полярных соединений.

Прямая СКЖЭ редко используется для экстракции анализов из водной матрицы. Ограничение метода связано с проблемой образования льда и с проблемой удаления воды. По окончании пробоподготовки количественное определение пестицидов осуществляют методом ВЭЖХ и часто с УФ-детектором.

**2.3.1 Результаты и выводы:** рассмотрели химический состав, пищевую и биологическую ценность безопасности продуктов питания.