



**МОЯ
Ойкумена**

УТВЕРЖДАЮ:

Директор МБОУ СШ № 31

Н.С. Данилюк



Методические материалы по организации учебно-исследовательской и социально-проектной деятельности школьников в области экологического мониторинга окружающей среды путем внедрения в образовательный процесс экологического практикума «Энзимоллюм»

Разработчики	м.н.с. Лаборатории биолюминесцентных биотехнологий СФУ	Е.М. Колосова
	д-р. биол. наук, проф., зав. Кафедрой биофизики СФУ	В.А. Кратасюк
	н.с. Лаборатории биолюминесцентных биотехнологий СФУ	Н.В. Римацкая
	методист МБОУ СШ #31	О.Н. Сухомлин
	учитель географии МБОУ СШ #31	Е.В. Ковальчук
	учитель биологии МБОУ СШ #31	М.С. Пономарева

Красноярск, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Раздел 1 Базовые принципы организации учебно-исследовательской и социально-проектной деятельности школьников в области экологического мониторинга окружающей среды путем внедрения в образовательный процесс экологического практикума «Энзимолюм»	3
1.1 Краткое описание образовательной модели.....	3
1.2 Подход к проведению учебно-исследовательской и социально-проектной работы	4
Раздел 2 Экологический практикум «Энзимолюм»	10
2.1 Принципы и возможности экологического практикума «Энзимолюм»	10
2.2 Правила работы с прибором, дозатором и реагентами	13
2.3 Примерная лабораторная работа №1.....	22
2.4 Примерная лабораторная работа №2.....	25
2.5 Примерная лабораторная работа №3.....	28

Раздел 1 Базовые принципы организации учебно-исследовательской и социально-проектной деятельности школьников в области экологического мониторинга окружающей среды путем внедрения в образовательный процесс экологического практикума «Энзимолум»

1.1 КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ МОДЕЛИ

Современная исследовательская и проектная деятельность обучающихся общеобразовательных учреждений невозможна без сотрудничества с экспертами, при этом роль учащегося не уменьшается, а увеличивается. В связке «ученик-учитель-ученый» ученик выполняет роль исследователя, в задачи которого входит проявление инициативы при проведении исследования и собственно обучение. Учитель является руководителем, он должен быть способен заинтересовать обучающегося, поддерживать, а также сопровождать. Данная роль выполнима только в случае наличия у учителя соответствующей квалификации. Авторская методическая сеть ставит своей целью повышения квалификации учителя в области современного экологического мониторинга до соответствующего уровня. Третьим звеном является ученый, который в данном случае выполняет роль научного руководителя. Цель его работы заключается в предложении более сложных методов и подходов, возможности предоставления расширенной приборной базы, а также в коррекции работы обучающегося и помощь в осмыслении и представлении результатов исследовательской и проектной деятельности.

1.2 ПОДХОД К ПРОВЕДЕНИЮ УЧЕБНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ И СОЦИАЛЬНО-ПРОЕКТНОЙ РАБОТЫ

Любая учебно-исследовательская и социально-проектная деятельность должна основываться на научных принципах, а результаты этой работы оформляться в определенной форме.

Научный метод заключается в творческом подходе к выполнению строго определенных шагов. Самый первый шаг научного метода – формулирование вопроса к природе (или любому другому объекту). Этим мы задаем **цель** исследованию или проекту. При формулировании цели нужно помнить, что она должна быть достижима. Далее выдвигается **гипотеза** – предполагаемый ответ на вопрос к природе. Следующим шагом происходит выбор **методов**, с помощью которых будет выполняться исследование, описывается ход работы. После этого реализуется сам **эксперимент**, результаты которого должны подтвердить или опровергнуть гипотезу, о чем указывается в **выводе**.

Важно, чтобы обучающийся являлся непосредственным участником учебно-исследовательской и проектной деятельности и с помощью наставников лично проходил все этапы:

- Разработка темы и предмета исследования;
- Анализ проблемы по данным литературы;
- Получение навыков работы с методиками и оборудованием;
- Выполнение экспериментальной работы;
- Обработка результатов эксперимента;
- Формулирование выводов;
- Разработка рекомендаций;

- Оформление материалов в виде письменного отчета и презентации;
- Доклад результатов работы на конференциях.

Как можно выстроить работу с обучающимся? Обычно в начале исследования появляется некий вопрос, наблюдение, желание изучить определенную проблему. Допустим, школьника заинтересовал вопрос (или эта идея была предложена педагогом): «безопасен ли песок в детских песочницах?». Попробуйте вместе с ним ответить на представленные ниже вопросы, они помогут определить ход работы.

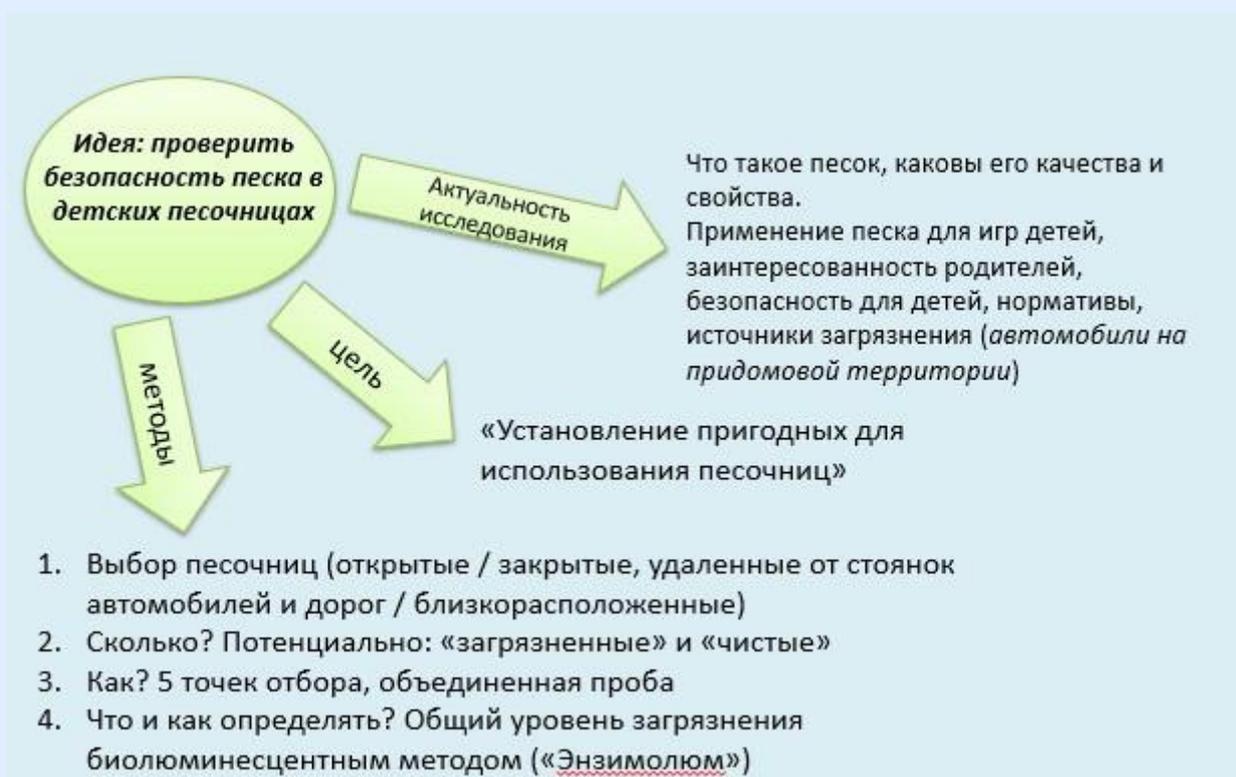


От ответов на вопросы зависит наполнение самой работы, полученные результаты и достижение цели. На следующем рисунке представлен вариант ответов на эти вопросы. А таковыми могут быть выводы, сформулированные по результатам исследования:

«По результатам данного исследования можно сделать следующие выводы о пригодности для использования исследованных песочниц:»

- *½ отобранных песочниц не загрязнены; остальная часть загрязнена, однако величина T не опускается ниже 50%*
- *Влияние расположенных на близком расстоянии автомобилей на качество песка не всегда является решающим фактором загрязненности песка.*

В дальнейшем планируется отобрать песок в разное время года, а также расширить диапазон исследуемых песочниц.»



ШАБЛОН ПИСЬМЕННОГО ПРЕДСТАВЛЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ РАБОТЫ В ВИДЕ ТЕЗИСОВ



Результаты учебно-исследовательской и социально-проектной деятельности оформляются в письменном виде. Ниже представлена примерная структура оформления работы в виде тезисов конференции.

Проект на тему: в области экологии **НАЗВАНИЕ РАБОТЫ**

ФИО Автора, выполнившего работу (школьника(ов)) Иванов Е. Н.

Данные руководителя руководитель учитель биологии Сорокова М.Н.

Название школы МАОУ Лицей №18 г. Подольска

Данные научного руководителя Научный руководитель доцент
Смирнов Л.А., Сибирский федеральный университет

1 Введение (*Обзор литературы по проблеме исследования*)

Актуальность проекта: Выявление проблемы, определение ее актуальности для выбранных объекта и предмета. Обязательно нужно указать, что сделано, а чего не сделано (в этом состоит новизна вашей работы!!!!!!) Исходя из нерешенных вопросов (проблема), выводится цель работы. Выявив проблему и определив ее актуальность, вы сможете сформулировать цель вашего проекта, а также его ожидаемые результаты

Цель проекта: Цель должна быть одна и достижима.

Цель проекта необходимо разложить на более мелкие составляющие — задачи. Каждая задача — это шаг на пути к достижению цели, устранение причины, из-за которой появилась проблема.

Задачи проекта: (Для достижения цели были поставлены следующие задачи...).

Для решения каждой задачи нужно будет провести исследование — это конкретные шаги, этапы, действия, которые вы будете предпринимать, то, что будет приведет в получение научного результата.

Гипотеза: Гипотеза – это научное предположение, допущение, истинное значение которого неопределенно. Формулируя гипотезу, исследователь строит предположение о том, каким образом намеревается достичь поставленной цели. В процессе исследования гипотеза корректируется, претерпевает изменения. Гипотеза должна естественно возникать в процессе исследования, это может быть предположение, которое истинно лишь частично.

Объект исследования:

Предмет исследования:

Объект — это процесс или явление, порождающее проблемную ситуацию и взятое исследователем для изучения. Объект — это та часть научного знания, с которой исследователь имеет дело. *(Садоводческие общества на территории ЗАТО г. Зеленогорска)*

Предмет — это то, что находится в рамках, в границах объекта. Предмет исследования — это тот аспект проблемы, исследуя который, мы познаем целостный объект, выделяя его главные, наиболее существенные признаки. Предмет исследования чаще всего совпадает с определением его темы или очень близок к нему. *(Загрязнение почв)*

Объект и предмет исследования как научные категории соотносятся как общее и частное.

Методы исследования: простое перечисление методов и подходов, используемых в работе.

План эксперимента: краткий ход работы.

2 Материалы и методы

В этом разделе описываются все использованные методы, материалы, реактивы, приборы, подходы. Описание осуществляется в

таком виде, чтобы эксперимент (исследование) можно было повторить другим ученикам.

3 Результаты и обсуждение

В этом разделе представляются все полученные данные в виде упоминания в тексте, таблиц и/или графиков. Приводятся рассуждения о полученных данных, как они соотносятся с целью, задачами и гипотезой исследования.

4 Заключение (выводы).

Указывается достижение/не достижение цели. Приводятся рекомендации по использованию результатов работы или её продолжению.



МОЯ
Ойкумена

Раздел 2 Экологический практикум «Энзимолюм»

2.1 ПРИНЦИПЫ И ВОЗМОЖНОСТИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ПРАКТИКУМА «ЭНЗИМОЛЮМ»

Экологический практикум «Энзимолюм» разработан на кафедре биофизики Института фундаментальной биологии и биотехнологии ФГАОУ ВО «Сибирского федерального университета» и ООО «НПП «Прикладные биосистемы» (<https://research.sfu-kras.ru/node/12444>). Такой комплекс с одной стороны прост и удобен в использовании, с другой – основывается на научных и методических разработках.

В основе принципа работы практикума лежит такое явление, как биолюминесценция. Свечение живых организмов, или биолюминесценция, — одно из самых прекрасных проявлений жизни на нашей планете; оно распространено практически повсеместно — от экватора до полярных широт, от поверхностных вод до предельных глубин. Природной способностью светиться обладает относительно небольшое число видов животных и растений, принадлежащих почти всем ко крупным таксонам, кроме высших растений и млекопитающих. Светящиеся формы обнаружены среди бактерий, простейших, кишечнополостных, моллюсков, иглокожих, червей, ракообразных, оболочников, многоножек, насекомых и рыб.

Свечение всех светящихся организмов происходит благодаря наличию в их организме специальных ферментов — люцифераз, катализирующих хемилюминесцентные реакции окисления субстратов, называемых люциферинами. Это особый тип химической реакции, в результате которой энергия выделяется не в виде тепла, а виде света.

В окружающем нас мире находится огромное количество веществ, токсичных для всего живого. Современный человек сталкивается с вредными веществами в своей среде обитания (почва, воздух, природные водоёмы), в условиях производства (газовые выбросы и сточные воды предприятия), при питании (пищевые продукты и питьевая вода). Поэтому крайне важным является поиск методов анализа для быстрой оценки токсичности. В этом отношении весьма перспективен биolumинесцентный анализ, основанный на способности разных видов живых организмов излучать видимый свет. Однако чаще всего для анализа используют светящихся бактерий и светляков.

Ферменты могут работать только при особых условиях. Для их активности нужна определённая температура, кислотность и др. Инактивировать («выключить») фермент способны также и некоторые токсичные вещества, они нарушают структуру фермента, и он больше не может выполнять свою функцию. Чем больше концентрация токсичных веществ, тем большее количество ферментов «сломается», а следовательно, не смогут участвовать в биolumинесцентной реакции. В результате интенсивность свечения падает.

Для изучения токсичности к светящимся бактериям добавляют исследуемое вещество, а затем регистрируют изменение интенсивности свечения. Различные вещества ведут себя в ходе реакции по-разному. Это напрямую влияет на интенсивность свечения: загрязнители и токсины уменьшают способность излучать свет. Так, свечение уменьшается при добавлении отравляющих и лекарственных средств. Если сравнивать интенсивность свечения системы с участием загрязнителя и без него, то в первом случае излучаемый свет будет

слабее. К веществам, стимулирующим свечение бактерий, относятся компоненты питательных сред, например, такие как жирные кислоты.

Объектами исследования являются всевозможные растворы, представляющие собой как собственно жидкие пробы (вода, раствор для линз, напитки, биологические жидкости и др.), так и переведенные в жидкое состояние «твердые» пробы (талый снег, экстракты из растений, водные вытяжки из почвы, смывы с поверхностей, «замачивание» различных предметов). Предметом исследования служит общий уровень загрязнения или антимикробная активность. Тематика исследований обширна и затрагивает большую часть проблем, связанных с загрязнением окружающей среды и экологией человека.



МОЯ
Ойкумена

2.2 ПРАВИЛА РАБОТЫ С ПРИБОРОМ, ДОЗАТОРОМ И РЕАГЕНТАМИ

БИОЛЮМИНОМЕТР. РУКОВОДСТВО ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ (на примере портативного люцинометра «LumiShot»)



Прибор-биолюцинометр представляет собой прибор для измерения малых потоков светового излучения (Рисунок 1).

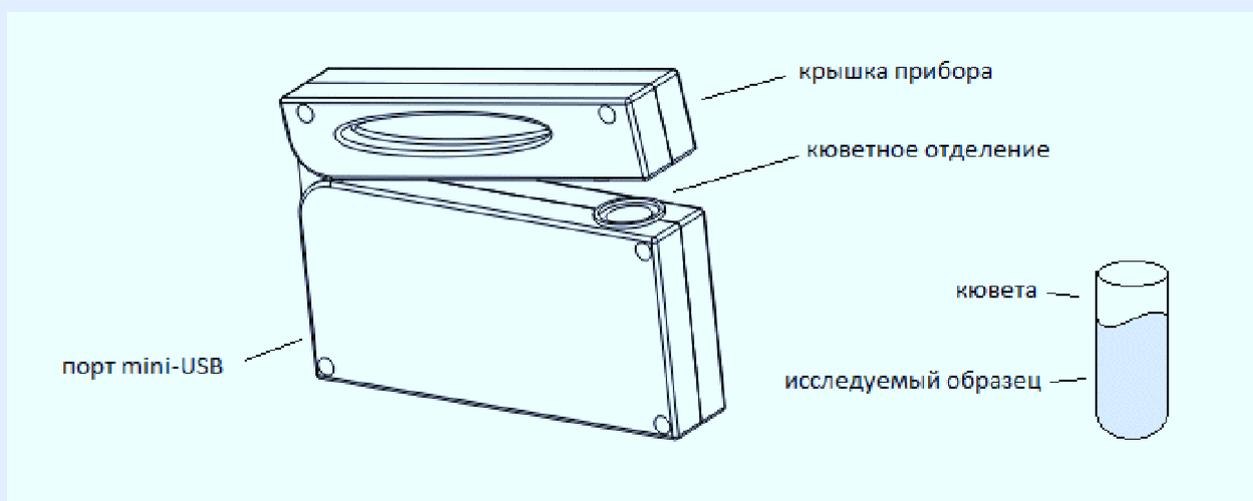


Рисунок 1 – Общий вид биолюцинометра "LumiShot" с кюветой.

ПОДКЛЮЧЕНИЕ

Подключение прибора к компьютеру осуществляется при помощи USB-кабеля. Не рекомендуется использовать USB-разветвители, а также подключать прибор к USB-портам на передних панелях настольных ПК в связи с их более низким напряжением. Лучше всего подключать кабель к USB-выходам непосредственно на материнской плате ПК и при этом в ходе проведения измерений не включать дополнительных устройств, особенно с высоким энергопотреблением.

ПРОГРЕВ

В приборе используются компактные детекторы света. У этих детекторов есть особенность — количество темновых пробоев существенно зависит от температуры, поэтому для качественного измерения необходимо обеспечить следующие условия:

- Перед экспериментом запустите пробное измерение для проверки прибора на требуемый рабочий режим, процесс может занять 5-10 минут.
- В ходе измерений образцы должны иметь температуру близкую к комнатной, чтобы при помещении кюветы в прибор не происходило охлаждение детектора.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРОВЕДЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ (на примере программного приложения «LabINote»)



1. В приложении выберите меню **Файл** → **Новый** или нажмите на ссылку **Создать новый документ для измерений** во вкладке **Руководство**.

2. Выберите меню **LumiShot** → **Новое измерение** (или нажмите комбинацию клавиш **Ctrl + 1**, или нажмите клавишу **Enter** и выберите появившуюся пиктограмму нового измерения ). Появится диаграмма измерения (рис.2).

3. Подключите прибор при помощи USB-кабеля к ПК и дождитесь сообщения об успешном соединении снизу на диаграмме измерения.

4. Установите период измерения (суммирования сигнала), вызвав пункт **Период измерения** в меню **LumiShot**. Стандартное используемое значение 0,2 секунды.

5. Запустите пробное измерение, чтобы прибор прогрелся. Для этого нажмите кнопку **Старт** на диаграмме измерения. Прогрев детектора может занять от 5 минут до получаса в зависимости от температуры эксплуатации. Когда показания выйдут на стабильный уровень, а именно когда колебания значений будут находиться в пределах ± 1000 относительных световых единиц (RLU), прибор можно считать готовым к работе. Нажмите кнопку **Завершить**.

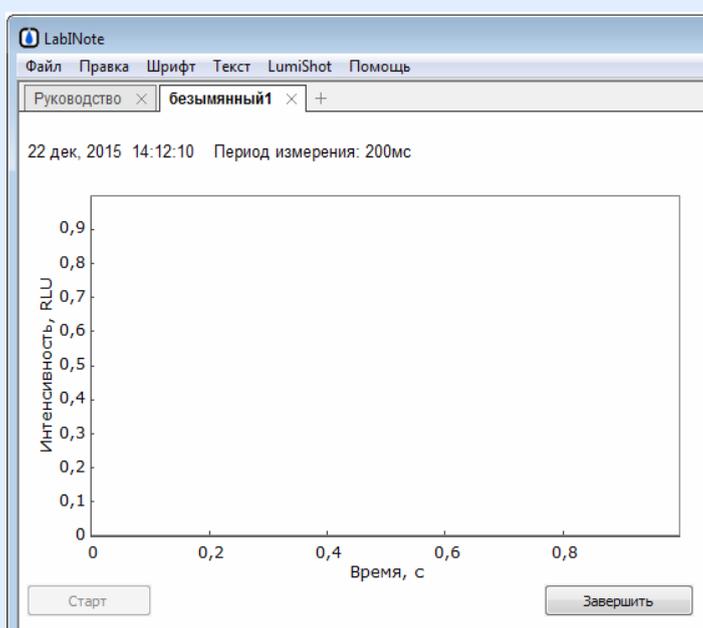


Рисунок 2 – Окно приложения с открытой диаграммой измерения.

6. Создайте новое измерение так же, как в пункте 2. Появится новая диаграмма измерения.

7. Запустите измерение, нажав кнопку **Старт**. Показания без исследуемого образца в кюветном отделении необходимо принимать за базовую линию, поэтому после фиксации нескольких точек нажмите кнопку **Вычислить фон**. Показания станут отображаться на графике в окрестности нуля RLU.

8. Поместите в кювету все необходимые компоненты реакционной смеси, которая указана в тексте выполняемой вами лабораторной работы. Диск реагента "Энзимоллюм" следует доставать из упаковки чистым сухим шпателем (или пинцетом). Жидкие компоненты добавляются в кювету при помощи автоматических пипеток. Непосредственно перед помещением в прибор кювету следует немного встряхнуть для лучшего перемешивания всех компонентов.

9. Не останавливая измерение, откройте крышку прибора, поместите кювету в кюветное отделение и закройте крышку. Интенсивность свечения исследуемого образца будет отображаться на той же диаграмме измерения.

10. Результатом измерения является кинетическая кривая интенсивности свечения (Рис. 3), которая характеризует изменение интенсивности свечения исследуемого образца с течением времени. В верхней части диаграммы автоматически отображается значение максимальной зарегистрированной интенсивности свечения в относительных световых единицах (RLU).

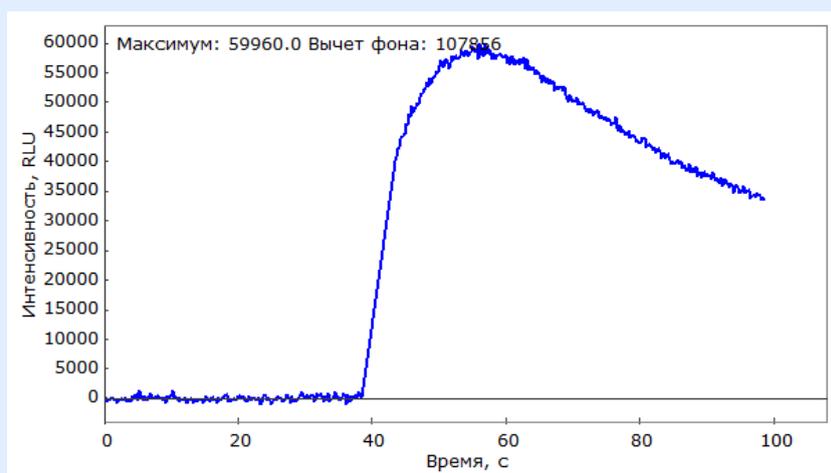


Рисунок 3 – Пример кинетической кривой интенсивности свечения

11. Для завершения измерения нажмите кнопку **Завершить**. Извлеките кювету из кюветного отделения прибора.
12. Как во время, так и после проведения измерения вы можете добавлять в документ комментарии в виде текста.
13. Чтобы провести следующее измерение, повторите пункты 6-11.
14. Для экспорта измерений в виде данных или изображения дважды щелкните на диаграмме левой кнопкой мыши и воспользуйтесь пунктом **График** верхнего меню.
15. Для того чтобы сохранить весь документ с измерениями в формате **doc**, выберите **Файл** → **Сохранить как**.
16. Завершите работу: отсоедините USB-кабель от прибора и ПК, закройте приложение.

ИНСТРУКЦИЯ ПО РАБОТЕ С РУЧНЫМИ МИКРОПИПЕТКАМИ



Автоматическая ручная микропипетка (дозатор) – это высокотехнологичное устройство поршневого типа, предназначенное для точного дозирования жидкостей, проб и реагентов при проведении лабораторных исследований.

1. Основные компоненты



1 – сменный наконечник; 2 – дисплей; 3 – упор для пальца; 4 – операционная кнопка.

2. Подготовка к работе

1. Установите желаемый объем в микролитрах, повернув операционную кнопку вокруг своей оси; значение отобразится на дисплее.

ВНИМАНИЕ! Выставляемый объем должен находиться в пределах рабочего диапазона, указанного на корпусе пипетки.

2. Наденьте чистый сменный наконечник.

ВНИМАНИЕ! Соблюдайте чистоту эксперимента. Не допускайте загрязнения растворов и проб. Для каждой жидкости используйте отдельный сменный наконечник. Во время дозирования не касайтесь наконечником жидкости, находящейся в приемном резервуаре (кювете). В случае попадания посторонних веществ замените наконечник. По окончании работы промойте или утилизируйте использованные наконечники.

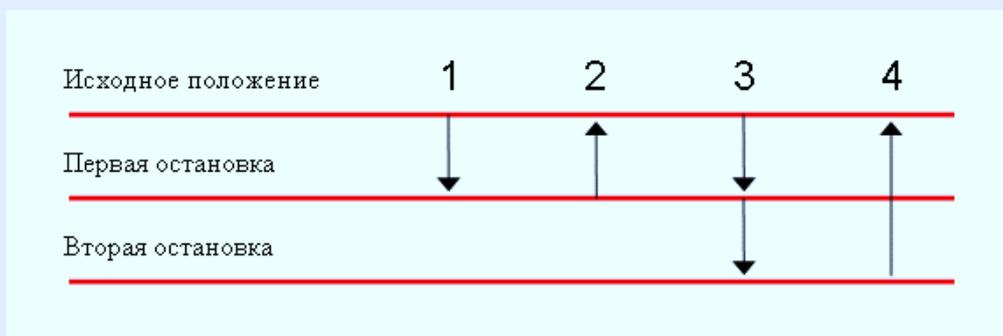
3. Техника и правила дозирования

1. Нажмите операционную кнопку до первого упора.

2. Погрузите наконечник в жидкость на 3-5 мм и медленно отпустите операционную кнопку. Выньте наконечник из жидкости.

3. Дозируйте жидкость в приемный резервуар (кювету), плавно нажав операционную кнопку до первого упора. Через секунду нажмите операционную кнопку до второго упора; это приведет к опорожнению наконечника. Выньте наконечник из резервуара.

4. Отпустите операционную кнопку; она вернется в положение готовности к работе.



ПРАВИЛА ОБРАЩЕНИЯ С РЕАКТИВАМИ



РЕАГЕНТ "ЭНЗИМОЛЮМ"

1. Правила хранения

Реагент "Энзимолюм" должен храниться в плотно закрытой упаковке при температуре от 0 до +4 °С.

2. Правила использования

Перед проведением измерений упаковку с реагентом следует достать из холодильника и выдержать при комнатной температуре не менее 10 минут.

Для проведения измерения необходимо аккуратно достать чистым сухим шпателем (или пинцетом) из упаковки с реагентом один диск и поместить его на дно сухой измерительной кюветы.

Не допускать попадания влаги внутрь упаковки!

ФЛАВИНМОНОНУКЛЕОТИД (ФМН)

1. Правила хранения

Порошок ФМН должен храниться в плотно закрытом флаконе из темного стекла в морозильной камере при температуре -5-20 °С.

Готовый раствор ФМН должен храниться в плотно закрытом флаконе из темного стекла при температуре от 0 до +4 °С.

2. Правила использования

Для приготовления раствора ФМН необходимо добавить во флакон с порошком ФМН требуемое количество дистиллированной воды (указанно на упаковке).

Перед проведением измерений флакон с раствором ФМН следует выдержать при комнатной температуре не менее 10 минут.

Избегать попадания прямых солнечных лучей!

ПРАВИЛА СОБЛЮДЕНИЯ ЧИСТОТЫ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТА



Не следует хранить пробы (воды, снега, почвы и др.) слишком долго при комнатной температуре. Если отбор проб осуществляется более чем за сутки до проведения измерений – пробы необходимо поместить в холодильник.

Нельзя допускать загрязнения растворов и проб. Дозирование каждой жидкости необходимо производить при помощи отдельного сменного наконечника для автоматической пипетки. Во время дозирования нельзя касаться наконечником жидкости, находящейся в приемном резервуаре (кювете). В случае попадания посторонних веществ следует заменить наконечник. Сменные наконечники во

время работы не должны касаться поверхности рабочего стола и других предметов; следует обеспечить чистоту рабочего стола - использовать специальные подставки для автоматических пипеток или положить на стол чистые листы бумаги.

Использованные кюветы, сменные наконечники и другую лабораторную посуду после проведения эксперимента необходимо тщательно вымыть. Для этого можно воспользоваться щеточкой и моющим средством. Вымытую посуду необходимо сполоснуть 20 раз проточной водой, затем 10 раз дистиллированной водой и оставить сушиться на чистой поверхности (например, на чистом листе бумаги).



МОЯ
Ойкумена

2.3 ПРИМЕРНАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1

ТЕСТИРОВАНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ СНЕГА

Цель: определить степень загрязнения снежного покрова при помощи биолюминесцентного метода тестирования; сравнить пробы снега, взятые в чистой местности и загрязненных районах.

Для работы вам потребуется:

1. Прибор-биолюминометр
2. Кюветы
3. Реагент "Энзимолюм"
4. Флавинмонопнуклеотид (FMN)
5. Дистиллированная вода
6. Автоматические микропипетки с наконечниками
7. Шпатель или пинцет
8. Три емкости для отбора проб снега
9. Бумажные фильтры



Ход работы

1. Наберите небольшое количество снега в таком районе, который можно было бы считать незагрязненным: например, в лесу, парке, вдали от автомобильных дорог, железнодорожных путей и промышленных предприятий. Также наберите ещё две пробы снега, уровень загрязнения которого вам бы хотелось оценить. Например, вы можете взять для анализа снег рядом с проезжей частью дороги, вблизи предприятий, ТЭЦ или просто в разных районах города. У вас должно получиться три емкости, которые назовем условно "проба 1", "проба 2" и "проба 3".

2. В помещении дайте пробам снега растаять (для этого можно поместить емкости со снегом на батарею или в теплую воду).

ВНИМАНИЕ! Во время измерений все пробы должны быть комнатной температуры.

3. Профильтруйте каждую из проб через бумажный фильтр.

4. Выполните пункты 1 – 5 *Инструкции по проведению измерений*.

5. Подготовьте реагент "Энзимолюм" и раствор ФМН для измерений согласно *Правилам обращения с реактивами*.

6. Проведите измерения контрольной пробы (дистиллированной воды). Для этого выполните пункты 6 – 11 *Инструкции по проведению измерений*.

Компоненты реакционной смеси, последовательно вносимые в кювету:

- а) 1 диск реагента "Энзимолюм";
- б) 300 мкл дистиллированной воды;
- в) 10 мкл ФМН.

Всего проведите 4 – 5 одинаковых измерений контрольной пробы.

ВНИМАНИЕ! Выполняйте все операции четко последовательно согласно Инструкции по проведению измерений. Ни в коем случае не вносите в кювету компоненты реакционной смеси заранее. Все компоненты должны быть смешаны непосредственно перед помещением в прибор. В противном случае измерение будет проведено некорректно.

7. Запишите значения максимальной интенсивности свечения и посчитайте их среднее арифметическое, то есть отношение суммы всех значений к их количеству (в нашем случае 4 или 5). Обозначим полученное сред. значение I_k .

8. Аналогичным образом проведите по 4 – 5 измерений для каждой пробы снега. Компоненты реакционной смеси, последовательно вносимые в кювету:

- а) 1 диск реагента "Энзимоллюм";
- б) 300 мкл пробы;
- в) 10 мкл ФМН.

9. Посчитайте средние арифметические максимальной интенсивности свечения для каждой из проб. Полученные средние значения обозначим I_1 , I_2 и I_3 .

10. Вычислите люциферазный индекс токсичности (ЛИТ) для каждой из проб по формуле:

$$\text{ЛИТ}_n = \frac{I_k - I_n}{I_k} \times 100\%, \text{ где } n = 1, 2, 3.$$

Если ЛИТ > 30 %, то пробу следует считать загрязненной, если ЛИТ < 30 % – незагрязненной.

11. На основании полученных результатов сделайте вывод о степени загрязнения снежного покрова. Имеются ли различия между пробами снега, взятыми в чистой местности и в других исследованных районах?

2.4 ПРИМЕРНАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №2

ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ЛИСТВЕННОГО ПОКРОВА ДЕРЕВЬЕВ

Цель: с помощью биолюминесцентного метода тестирования сравнить степень загрязнения лиственного покрова деревьев на различном удалении от автомобильной дороги.

Для работы вам потребуется:

1. Прибор-биолюминометр
2. Реагент "Энзимолжюм"
3. Дистиллированная вода
4. Флавинмоноклеотид (ФМН)
5. Автоматические микропипетки с наконечниками
6. Шпатель
7. Пинцет
8. Три емкости для смыва с листьев (стаканы)
9. Мерный цилиндр



Ход работы

1. Соберите листья с трех деревьев, растущих в разной степени удаления от автомобильной дороги: непосредственно возле проезжей части, на расстоянии 10-15 метров и на достаточно большом расстоянии (не менее 100 метров). Желательно, чтобы выбранные вами деревья были одной лиственной породы (например, только тополя или только березы), а собранные листья были неповрежденные и примерно одинакового размера. С каждого дерева сорвите по десять листьев и поместите в отдельные полиэтиленовые или бумажные пакеты.

2. Выполните пункты 1 – 5 *Инструкции по проведению измерений*.

3. Подготовьте реагент "Энзимолюм" и раствор ФМН для измерений согласно *Правилам обращения с реактивами*.

4. Возьмите листья, сорванные с дерева возле дороги, и произведите смыв с их поверхности. Для этого мерным цилиндром налейте в стакан 10 мл дистиллированной воды и тщательно прополощите в ней по очереди каждый из десяти листьев с помощью пинцета. Проследите, чтобы во время данной процедуры листья сохраняли свою целостность, не рвались, и в воду попадали только вещества с их поверхности.

Таким же образом произведите смывы с листьев, сорванных с двух других деревьев.

5. Проведите измерения контрольной пробы (дистиллированной воды). Для этого выполните пункты 6 – 11 *Инструкции по проведению измерений*.

Компоненты реакционной смеси, последовательно вносимые в кювету:

- а) 1 диск реагента "Энзимолюм";
- б) 300 мкл дистиллированной воды;
- в) 10 мкл ФМН.

Всего проведите 4 – 5 одинаковых измерений контрольной пробы.

ВНИМАНИЕ! Выполняйте все операции четко последовательно согласно Инструкции по проведению измерений. Ни в коем случае не вносите в кювету компоненты реакционной смеси заранее. Все компоненты должны быть

смешаны непосредственно перед помещением в прибор. В противном случае измерение будет проведено некорректно.

6. Запишите значения максимальной интенсивности свечения и посчитайте их среднее арифметическое, то есть отношение суммы всех значений к их количеству (в нашем случае 4 или 5). Обозначим полученное сред. значение I_k .

7. Аналогичным образом проведите по 4 – 5 измерений для каждого из трех полученных смывов с листьев.

Компоненты реакционной смеси, последовательно вносимые в кювету:

а) 1 диск реагента "Энзимоллюм";

б) 300 мкл смыва;

в) 10 мкл ФМН.

8. Посчитайте средние арифметические максимальной интенсивности свечения для каждого из трех анализируемых смывов. Полученные средние значения обозначим I_1 , I_2 и I_3 .

9. Вычислите люциферазный индекс токсичности (ЛИТ) для каждого смыва по формуле:

$$\text{ЛИТ}_n = \frac{I_k - I_n}{I_k} \times 100\%, \text{ где } n = 1, 2, 3.$$

Если ЛИТ > 30 %, то следует сделать вывод о наличии загрязнения, если ЛИТ < 30 % – об отсутствии загрязнения

10. Проанализируйте полученные результаты. Удалось ли вам выявить загрязнение на поверхности листьев деревьев с помощью биoluminesцентного метода тестирования? Уменьшается ли степень загрязнения листьев по мере удаления от проезжей части дороги? Сделайте выводы.

2.5 ПРИМЕРНАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3

АНАЛИЗ ЧИСТОТЫ ПОВЕРХНОСТИ ФРУКТОВ И ОВОЩЕЙ

Цель: с помощью биолюминесцентного метода тестирования оценить чистоту поверхности фруктов и овощей.

Для работы вам потребуется:

1. Прибор-биолюминометр
2. Реагент "Энзимолюм"
3. Дистиллированная вода
4. Флавинмоноклеотид (ФМН)
5. Автоматические микропипетки с наконечниками
6. Шпатель или пинцет
7. Чашка или блюдце
8. Мерный цилиндр
9. Маленький ершик или щеточка



Ход работы

1. Выберите фрукты или овощи для анализа. Это могут быть любые фрукты, кроме цитрусовых, например: яблоки, груши, сливы, виноград; а также любые овощи, кроме корнеплодов, например: помидоры, огурцы, перцы, баклажаны. В первую очередь нас интересуют такие плоды, которые советуют мыть перед употреблением в пищу. То есть, например, бананы, с которых снимают шкурку, нам не подойдут. Вы можете взять для сравнения фрукты и овощи, купленные в разных магазинах, привезенные из разных мест, а также выращенные на дачных участках.

2. Выполните пункты 1 – 5 *Инструкции по проведению измерений.*

3. Подготовьте реагент "Энзимолюм" и раствор ФМН для измерений согласно *Правилам обращения с реактивами*.

4. Произведите смывы с поверхности выбранных фруктов или овощей по следующей методике. Поместите анализируемый плод в чистую чашку, блюдце или любую другую емкость, в которой было бы удобно его помыть. Прилейте с помощью мерного цилиндра 10 мл дистиллированной воды и смочите в ней плод. Затем аккуратно потрите плод щеточкой в местах соприкосновения с водой, для того чтобы лучше смыть все вещества с его поверхности. Помойте весь анализируемый фрукт или овощ таким образом, поворачивая его рукой. Достаньте плод из емкости. Смыв готов. В итоге у вас должно получиться несколько разных смывов (по количеству фруктов и овощей).

5. Проведите измерения контрольной пробы (дистиллированной воды). Для этого выполните пункты 6 – 11 *Инструкции по проведению измерений* (Глава 3.2).

Компоненты реакционной смеси, последовательно вносимые в кювету:

- а) 1 диск реагента "Энзимолюм";
- б) 300 мкл дистиллированной воды;
- в) 10 мкл ФМН.

Всего проведите 4 – 5 одинаковых измерений контрольной пробы.

ВНИМАНИЕ! Выполняйте все операции четко последовательно согласно Инструкции по проведению измерений. Ни в коем случае не вносите в кювету компоненты реакционной смеси заранее. Все компоненты должны быть

смешаны непосредственно перед помещением в прибор. В противном случае измерение будет проведено некорректно.

6. Запишите значения максимальной интенсивности свечения и посчитайте их среднее арифметическое, то есть отношение суммы всех значений к их количеству (в нашем случае 4 или 5). Обозначим полученное среднее значение I_k

7. Аналогичным образом проведите по 4 – 5 измерений для каждого полученного смыва.

Компоненты реакционной смеси, последовательно вносимые в кювету:

а) 1 диск реагента "Энзимолум";

б) 300 мкл смыва;

в) 10 мкл ФМН.

8. Посчитайте средние арифметические максимальной интенсивности свечения для каждого смыва. Полученные средние значения обозначим I_1, I_2, I_3 и так далее.

9. Вычислите люциферазный индекс токсичности (ЛИТ) по формуле:

$$\text{ЛИТ}_n = \frac{I_k - I_n}{I_k} \times 100\%, \text{ где } n = 1, 2 \text{ и т. д.}$$

Чем больше значение ЛИТ, тем грязнее поверхность тестируемого фрукта или овоща. Чем меньше значение ЛИТ - тем чище.

10. Проанализируйте полученные результаты. Какие рекомендации вы можете дать, исходя из них, своим друзьям и знакомым? Какие фрукты и овощи следует мыть особенно тщательно? Сделайте выводы.