

**Н. В. Римацкая, Е. М. Колосова, А. Е. Говорун,
А. Е. Казакбиева, В. А. Кратасюк**

БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ПРАКТИКУМ

Рабочая тетрадь для учащихся

ХАНТЫ-МАНСИЙСКОГО АВТОНОМНОГО ОКРУГА – ЮГРЫ

**БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СУРГУТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**Н. В. Римацкая, Е. М. Колосова, А. Е. Говорун,
А. Е. Казакбиева, В. А. Кратасюк**

**БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ
ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ПРАКТИКУМ**

Рабочая тетрадь для учащихся

Сургут
Издательский центр СурГУ
2022

УДК 504.06(076.5)
ББК 20.18я72
Э40

Римацкая Н. В.

Э40 Биоломинесцентный экологический практикум : рабочая тетрадь для учащихся / Н. В. Римацкая, Е. М. Кратасюк, А. Е. Говорун [и др.] ; Сургут. гос. ун-т. – Сургут : ИЦ СурГУ, 2022. – 35 с.
ISBN 978-5-89545-553-1

Рабочая тетрадь разработана совместно с Сибирским федеральным университетом (СФУ) в рамках дополнительной общеразвивающей программы «Учебно-исследовательская деятельность учащихся школ в сфере экологического мониторинга с применением новейших методов биотестирования» для учащихся 8–10 классов.

УДК 504.06(076.5)
ББК 20.18я72

ISBN 978-5-89545-553-1

© Коллектив авторов, 2022
© БУ ВО «Сургутский государственный университет», 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	4
Занятие 1. Основы билюминесцентного анализа.....	4
Занятие 2. Приборная база, правила работы, правила безопасности.....	9
Занятие 3. Лабораторная работа № 1. Тестирование загрязнения снега	17
Занятие 4. Лабораторная работа № 2. Оценка загрязнения лиственного покрова деревьев	20
Занятие 5. Лабораторная работа № 3. Анализ чистоты поверхности фруктов и овощей ..	23
Занятие 6. Лабораторная работа № 4. Тестирование загрязнения почвы.....	26
Занятие 7. Лабораторная работа № 5. Экологическое исследование.....	29
Список литературы	32

ПРЕДИСЛОВИЕ

Рабочая тетрадь для учащихся «Биолюминесцентный экологический практикум» разработана в рамках дополнительной общеразвивающей программы «Учебно-исследовательская деятельность учащихся школ в сфере экологического мониторинга с применением новейших методов биотестирования» для учащихся 13–16 лет (8–10 классы), срок реализации программы: 144 часа.

Рабочая тетрадь включает в себя 7 основных занятий, на каждый из которых в учебном плане отведено определенное количество часов.

Первые занятия посвящены изучению явления биолюминесценция и знакомству с основами биолюминесцентного анализа. Во втором разделе учащиеся знакомятся с правилами работы в лаборатории, требованиями безопасности, а также с оборудованием. На занятиях с третьего раздела проводятся лабораторные работы, которые можно использовать в качестве основы для учебно-исследовательской деятельности учащихся.

Рабочую тетрадь необходимо использовать совместно с изданием: Экологический мониторинг с применением новейших методов биотестирования: лабораторный практикум для преподавателей дополнительного образования в рамках дополнительной общеобразовательной программы / Н. В. Римацкая, Е. М. Кратасюк, А. Е. Говорун [и др.] ; Сургут. гос. ун-т. Сургут : ИЦ СурГУ, 2022. 39 с.

Занятие 1 ОСНОВЫ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА

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 и обнаружено как у наземных, так и у морских организмов.

Возможно, кто-то из вас видел летающих в лесу жучков, которые светятся. Эти жучки называются светляками (рис. 1).



Рис. 1. Фотографии и рисунки светляков
Источники изображений – ресурсы сети Интернет

Природной способностью светиться обладает относительно небольшое число видов животных и растений, принадлежащих почти всем крупным таксонам, кроме высших растений и млекопитающих. Светящиеся формы обнаружены среди бактерий, простейших, кишечнополостных, моллюсков, иглокожих, червей, ракообразных, оболочников, многоножек, насекомых и рыб.

Задание

Найди в учебнике биологии, библиотеке или в интернете информацию о том, какие еще организмы светятся. Заполни таблицу:

Видовое название	Указать царство, класс	Где встречаются	С какой целью организм использует свечение

Прочитай внимательно текст, описывающий явление биолюминесценции, найди и подчеркни определения следующих терминов: «ферменты», «люцифераза», «люциферин», «специфичность», «субстрат».

Благодаря чему возможно такое «живое» свечение? Вероятно, ты знаешь, что в результате химической реакции может выделяться тепло (такие реакции еще называют экзотермическими). Существуют такие химические реакции, в ходе которых выделяется только свет. К таким реакциям относятся биолюминесцентные реакции. Свечение всех организмов происходит благодаря наличию в их организме специальных ферментов – люцифераз, катализирующих хемилюминесцентные реакции окисления субстратов, называемых люциферинами.

Ферменты – вещества, ускоряющие ход химической реакции в сотни раз и даже более. Они играют важнейшую роль во всех процессах жизнедеятельности. Дело в том, что некоторые биохимические реакции сами по себе протекают чрезвычайно медленно (например, для завершения таких реакций может потребоваться несколько десятков лет). Но стоит провести эту же реакцию в присутствии фермента, как время ее протекания сокращается до долей секунды. Но живым организмам без такой высокой скорости протекания биохимических реакций не обойтись, поскольку для выживания в них должны протекать тысячи и тысячи реакций, обеспечивающих своевременное поступление и переработку очень многих веществ. У ферментов есть одна важная отличительная особенность: специфичность. Это означает, что каждый фермент, как правило, катализирует строго определенную биохимическую реакцию, в которой субстрат специфически связывается с ферментом и они подходят друг к другу как ключ к замку (рис. 2). Ни с каким другим веществом, даже очень близким по строению, фермент не будет взаимодействовать, если он узко специфичен.

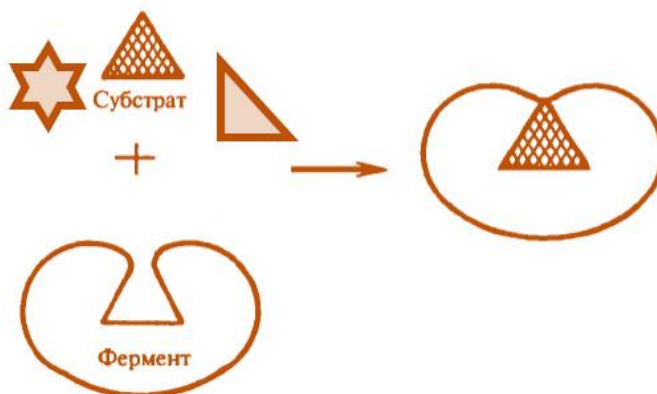


Рис. 2. Специфичность фермента.
Только один субстрат подходит для данного фермента



Рис. 3. Взаимодействие фермента и субстрата – схема биохимической реакции [5]

Источник: Березов Г. Г., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия, 1998

Субстрат с помощью фермента преобразуется в другое вещество, называемое конечным *продуктом* (рис. 3). Реакцию биолюминесценции катализирует фермент люцифераза, а

субстратом является *люциферин*. Но понятие «люцифераза» и «люциферин» у разных светящихся организмов различаются. Общим для всех биolumинесцентных реакций является то, что продуктом реакции являются кванты света.

Задание

Самостоятельно или в небольших группах обсудите прочитанный текст. Подчеркни слова и словосочетания, которые относятся к указанным в таблице терминам, сформулируй определения и запиши в таблицу:

Термин	Определение
Ферменты	
Люцифераза	
Люциферин	
Специфичность	
Субстрат	

Обсудите с одноклассниками, одинаковые ли у вас получились определения. На основе описанного выше явления свечения живых организмов были разработаны методы биolumинесцентного анализа токсичных веществ, называемые ферментативными биolumинесцентными биотестами. Принцип действия этих методов описан ниже.

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 водоемы), 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. Чаще всего для биolumинесцентного анализа используют ферменты светящихся бактерий и светлячков.

Ферменты могут работать только при особых условиях. Для их активности нужна определенная 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 (рис. 4).

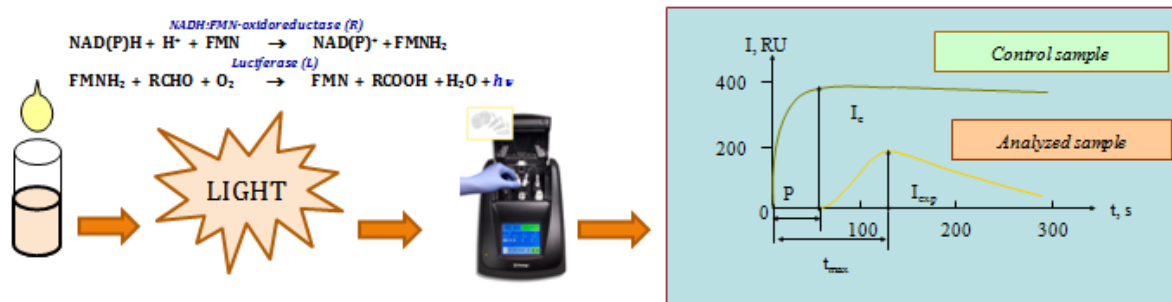


Рис. 4. Принцип биolumинесцентного метода [15]

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 загрязнение окружающей среды.

Задание

1. Какие объекты можно изучать с помощью биолюминесцентного метода анализа?

2. Что происходит с интенсивностью свечения бактерий и биолюминесцентной реакцией, если добавить опасное токсичное вещество?

3. Подумай, какое вещество тебе хотелось бы исследовать на безопасность. Помни, что это вещество должно быть жидким. Запиши возможные варианты.

Занятие 2

ПРИБОРНАЯ БАЗА, ПРАВИЛА РАБОТЫ, ПРАВИЛА БЕЗОПАСНОСТИ

Правило № 1 – все работы в лаборатории необходимо проводить под руководством взрослых!




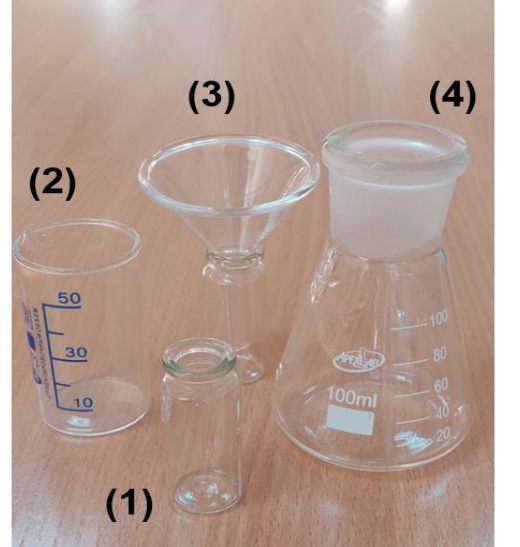
1. Обсудите с одноклассниками, кто сегодня дежурный. У него будет ответственная миссия – следить за санитарным состоянием лаборатории во время занятия.
2. Внимательно осмотри оборудование, с которым будешь работать. Если видишь, что прибор не работает, оборваны провода, неисправна розетка, то сразу сообщи учителю, а сам ничего не трогай. Это может быть опасно!
3. Если ты что-то разбил – не переживай. Позови учителя, аккуратно соберите осколки и сложите в специальный контейнер.
4. Внимательно следи, чтобы никакие жидкости не попадали на кожу и в глаза. Если такое произошло, то сообщи учителю и промой кожу или глаза обильной струей воды.
5. После окончания работы всегда мой руки с мылом.
6. Когда закончишь выполнять лабораторную работу, обязательно наведи порядок на рабочем месте, сдай инструменты и реактивы, выключи приборы. Пусть дежурный отметит чистоту твоего рабочего места.

ВАЖНО! Следующие правила нельзя нарушать ни в коем случае – от их выполнения зависит твои жизнь и здоровье.

- Запрещается входить в лабораторию в верхней одежде.
- Открывать окна в лаборатории можно только по разрешению преподавателя.
- В лабораторию запрещается приносить и употреблять напитки и продукты.
- Не разрешается приносить в лабораторию хищных животных и жалящих насекомых.
- Запрещается пользоваться открытым огнем.
- Включать и выключать тумблеры в электрическом щитке можно только с разрешения преподавателя.

А теперь давай познакомимся с основными приборами и оборудованием, с которым ты будешь работать.

Наименование и характеристика оборудования и материалов	Внешний вид
<p><i>Биолюминометр.</i> Прибор для измерения интенсивности светового потока</p>	

Наименование и характеристика оборудования и материалов	Внешний вид
<p><i>Автоматический микродозатор.</i> Специальное устройство для забора строго определенного объема жидкости</p>	
<p><i>Аналитические весы.</i> Необходимы для взвешивания очень маленьких образцов, как правило до 100 г</p>	
<p><i>Лакмусовая бумага.</i> С ее помощью определяют показатели кислотности растворов</p>	
<p><i>Лабораторная посуда.</i> Специальная посуда для проведения лабораторных работ. Как правило, такую посуду делают из стекла и наносят маркировку. Это могут быть пенициллиновые флаконы (1), стаканчики (2), воронки (3), колбы (4) и др.</p>	

Биолюминометр. Руководство пользователя
(на примере портативного люминометра «LumiShot»)



Прибор-биолюминометр представляет собой прибор для измерения малых потоков светового излучения (рис. 1).

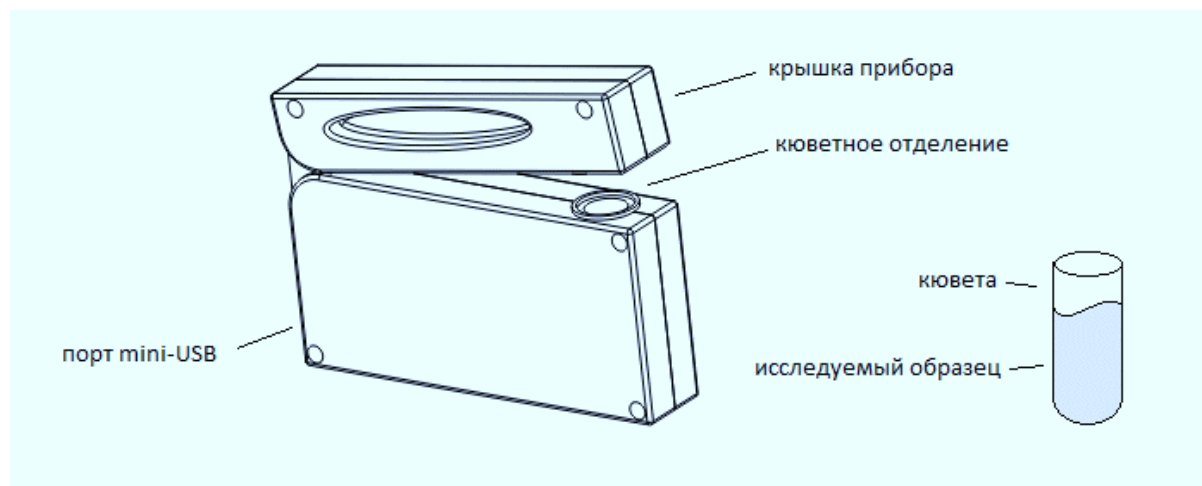


Рис. 1. Общий вид биолюминометра «LumiShot» с кюветой [50]

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 – результаты измерений сильно зависят 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.

Задания:


1. Внимательно рассмотрите прибор. Где находится детектор света?

2. Объясни, почему необходимо плотно закрывать крышку прибора при измерениях.

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 ).

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**.

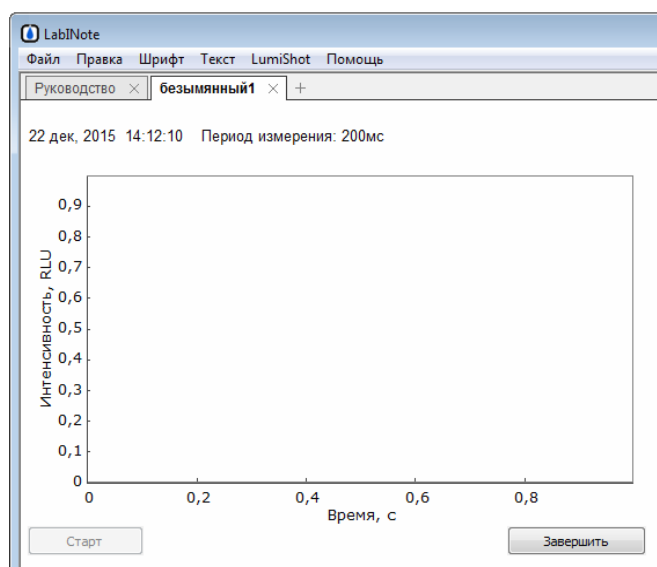


Рис. 2. Окно приложения с открытой диаграммой измерения

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. Последовательность следующая:

а) один диск реагента «Энзимоллюм» помещается на дно кюветы;

б) контрольная жидкость (дистиллированная вода) в случае контрольного измерения или исследуемая жидкость (вода из водопровода, талый снег, смывы с поверхностей и т. п.) в заданном объеме (300 мкл);

в) последним в кювету добавляется водный раствор ФМН в объеме 10 мкл.

Примечание. Диск реагента «Энзимолюм» 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).

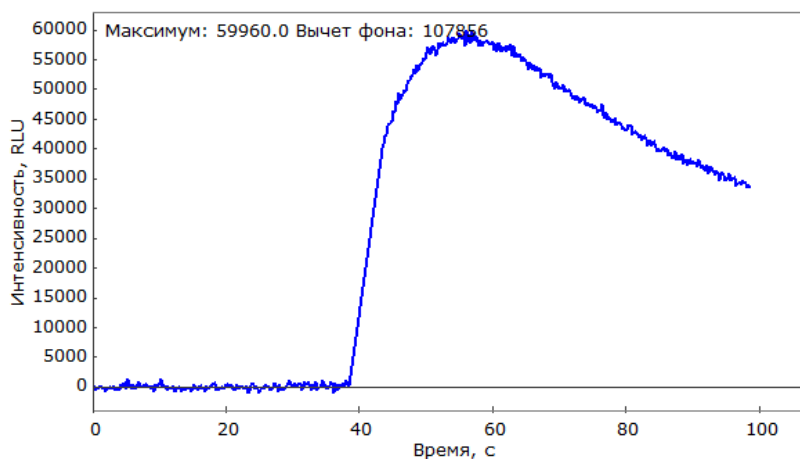


Рис. 3. Пример кинетической кривой интенсивности свечения [45]

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.

Задания:

1. Открой программу и выполни действия 1–7. Все ли получилось?
2. Какой параметр отображен на оси абсцисс, каковы единицы измерения?

-
3. Какой параметр отображен на оси ординат, каковы единицы измерения?
-



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

I. Основные компоненты (рис. 1).



Рис. 1. Основные компоненты автоматической ручной микропипетки:

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

II. 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.

III. 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.

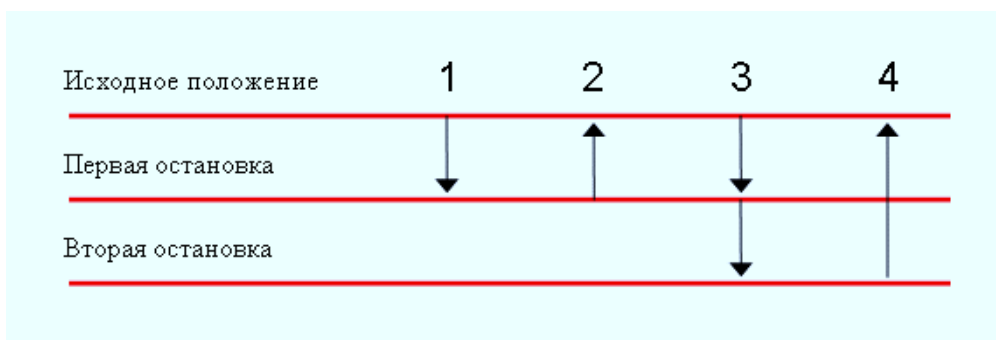


Рис. 2. Техника и правила дозирования



РЕАГЕНТ «ЭНЗИМОЛЮМ»

Реагент «Энзимолюм» представляет собой высушенные ферменты и субстраты, необходимые для их работы, кроме флавиномононуклеотида (ФМН). Он добавляется отдельно и необходим для запуска реакции, начала работы ферментов.

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. Следом в измерительную кювету добавляют контрольную жидкость (дистиллированную воду) в случае контрольного измерения или исследуемую жидкость (вода из водопровода, талый снег, смывы с поверхностей и т. п.) в заданном объеме (300 мкл). Последним в кювету добавляется ФМН.

Не допускать попадания влаги внутрь упаковки с реагентом!

ФЛАВИМОНОНУКЛЕОТИД (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 (указано на упаковке).

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

Избегать попадания прямых солнечных лучей!

Задание:

1. Найди в справочниках в библиотеке или в интернете химическую и структурную формулу флавиномононуклеотида. Нарисуй ее.

Химическая формула	Структурная формула

2. К какой группе веществ относится ФМН?

3. Какого цвета раствор ФМН?

4. Как ты думаешь, где может применяться ФМН?



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).

Занятие 3
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 потребуется:

1. Прибор-биолюминометр.
2. Кюветы.
3. Реагент «Энзимоллюм».
4. Флавинмоноклеотид (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. Набери 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 набери еще две пробы снега, уровень загрязнения которого тебе бы хотелось оценить. Например, ты можешь взять для анализа снег рядом с проезжей частью дороги, вблизи предприятий, ТЭЦ или просто в разных районах города. У тебя должно получиться три емкости, которые назовем условно «проба 1», «проба 2» и «проба 3». Внеси информацию о них в таблицу.

Образец	Место отбора, координаты	Источники загрязнения
Проба 1		
Проба 2		
Проба 3		

2. В помещении дай 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. Профильтруй каждую из проб через бумажный фильтр.

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

5. Подготовь реагент «Энзимоллюм» и раствор ФМН для измерений согласно *Правилам обращения с реактивами*.

6. Проведи 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 «Энзимоллюм»;
- б) 300 мкл дистиллированной воды;
- в) 10 мкл ФМН.

Всего необходимо провести 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. Запиши в таблицу значения максимальной интенсивности свечения и посчитай их среднее арифметическое, то есть отношение суммы всех значений к их количеству (в нашем случае 4 или 5). I_k^1 – интенсивность свечения контрольного образца, первая кювета. I_k^2 – интенсивность свечения контрольного образца, вторая кювета и т. д., а среднее полученное значение обозначим I_k .

Максимальная интенсивность свечения:	
I_k^1	
I_k^2	
I_k^3	
I_k^4	
I_k^5	
Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения I_k (I_k среднее = $(I_k^1 + I_k^2 + I_k^3 + I_k^4 + I_k^5) / 5$)	

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

- а) 1 диск реагента «Энзимолюм»;
- б) 300 мкл пробы;
- в) 10 мкл ФМН.

9. Запиши в таблицу значения максимальной интенсивности свечения и посчитай их среднее арифметическое для каждой из проб. Полученные средние значения обозначим I_n^m , где n – номер пробы (например, снег, отобранный возле школы – это проба № 1), а m – номер измерения (кюветы) пробы номер n . Для каждой пробы необходимо провести по $m = 4–5$ измерений.

Проба снега 1		Проба снега 2		Проба снега 3	
Максимальная интенсивность свечения		Максимальная интенсивность свечения		Максимальная интенсивность свечения	
I_1^1		I_2^1		I_3^1	
I_1^2		I_2^2		I_3^2	
I_1^3		I_2^3		I_3^3	
I_1^4		I_2^4		I_3^4	
I_1^5		I_2^5		I_3^5	
Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения		Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения		Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения	
I_1 среднее		I_2 среднее		I_3 среднее	

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

$$\text{ЛИТ}_n = \frac{I_k - I_n}{I_k} \times 100 \%,$$

где $n = 1, 2, 3$ (номер измерения исследуемой жидкости);

I_n – интенсивность свечения исследуемой жидкости номер n ;

I_k – среднее арифметическое интенсивности свечения контроля.

Если ЛИТ $> 30 \%$, то пробу следует считать загрязненной, если ЛИТ $< 30 \%$ – незагрязненной. Численное значение люциферазного индекса и вывод о загрязнении запиши в таблицу.

ЛИТ пробы 1	ЛИТ пробы 2	ЛИТ пробы 3

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

Вывод: _____

Занятие 4
Лабораторная работа № 2
ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ЛИСТВЕННОГО ПОКРОВА ДЕРЕВЬЕВ

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

Для работы потребуется:

1. Прибор-билюминометр.
2. Реагент «Энзимоллюм».
3. Дистиллированная вода.
4. Флавиномононуклеотид (ФМН).
5. Автоматические микропипетки с наконечниками.
6. Шпатель.
7. Пинцет.
8. Три емкости для смыва с листьев (стаканы).
9. Мерный цилиндр.



Ход работы:

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

Образец	Вид дерева	Кол-во листочков	Место отбора	Удаленность от дороги, м
Проба 1				
Проба 2				
Проба 3				

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

3. Подготовь реагент «Энзимоллюм» и раствор ФМН для измерений согласно *Правилам обращения с реактивами*.

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

Таким же образом произведи смывы с листьев, сорванных с двух других деревьев, в следующих двух стаканах.

5. Проведи 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 «Энзимоллюм»;
- б) 300 мкл дистиллированной воды;
- в) 10 мкл ФМН.

Всего проведи 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. Запиши значения максимальной интенсивности свечения и посчитай их среднее арифметическое, т. е. отношение суммы всех значений к их количеству (в нашем случае 4 или 5). I_k^1 – интенсивность свечения контрольного образца, первая кювета. I_k^2 – интенсивность свечения контрольного образца, вторая кювета и т. д. А среднее полученное значение обозначим I_k .

Максимальная интенсивность свечения:	
I_k^1	
I_k^2	
I_k^3	
I_k^4	
I_k^5	
Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения I_k (I_k среднее = $(I_k^1 + I_k^2 + I_k^3 + I_k^4 + I_k^5) / 5$)	

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

Компоненты реакционной смеси, последовательно вносимые в кювету:

- 1 диск реагента «Энзимолюм»;
- 300 мкл смыва;
- 10 мкл ФМН.

8. Запиши в таблицу значения максимальной интенсивности свечения и посчитай их среднее арифметическое для каждой из проб. Полученные средние значения обозначим I_n^m , где n – номер пробы (например, смыв с листочков, отобранных возле школы – это проба № 1), а m – номер измерения (кюветы) пробы номер n . Для каждой пробы необходимо провести по $m = 4–5$ измерений.

Проба 1 (смыв с листьев, место отбора 1)		Проба 2 (смыв с листьев, место отбора 2)		Проба 3 (смыв с листьев, место отбора 3)	
Максимальная интенсивность свечения		Максимальная интенсивность свечения		Максимальная интенсивность свечения	
I_1^1		I_2^1		I_3^1	
I_1^2		I_2^2		I_3^2	
I_1^3		I_2^3		I_3^3	
I_1^4		I_2^4		I_3^4	
I_1^5		I_2^5		I_3^5	
Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения		Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения		Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения	
I_1 среднее		I_2 среднее		I_3 среднее	

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

$$\text{ЛИТ}_n = \frac{I_k - I_n}{I_k} \times 100 \%,$$

где $n = 1, 2, 3$ (номер измерения исследуемой жидкости);

I_n – интенсивность свечения исследуемой жидкости номер n ;

I_k – среднее арифметическое интенсивности свечения контроля.

Если ЛИТ $> 30 \%$, то пробу следует считать загрязненной, если ЛИТ $< 30 \%$ – незагрязненной. Численное значение люциферазного индекса и вывод о загрязнении запиши в таблицу.

ЛИТ пробы 1	ЛИТ пробы 2	ЛИТ пробы 3

10. Проанализируй полученные результаты. Удалось ли тебе выявить загрязнение на поверхности листьев деревьев с помощью биолюминесцентного метода тестирования? Уменьшается ли степень загрязнения листьев по мере удаления от проезжей части дороги? Сделай выводы.

Вывод: _____

Занятие 5
Лабораторная работа № 3
АНАЛИЗ ЧИСТОТЫ ПОВЕРХНОСТИ ФРУКТОВ И ОВОЩЕЙ

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

Для работы потребуется:

1. Прибор-билюминометр.
2. Реагент «Энзимоллюм».
3. Дистиллированная вода.
4. Флавинмоноклеотид (ФМН).
5. Автоматические микропипетки с наконечниками.
6. Шпатель или пинцет.
7. Чашка или блюдо.
8. Мерный цилиндр.
9. Маленький ершик или щеточка.



Ход работы:

1. Выбери 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. Можно взять для сравнения фрукты и овощи, купленные в разных магазинах, привезенные из разных мест, а также выращенные на дачных участках. Всего может быть от 3 до 6 различных плодов. Запиши информацию о выбранных образцах в таблицу.

Образец	Вид фрукта / овоща	Место отбора / покупки	Дополнительные сведения
Проба 1			
Проба 2			
Проба 3			
...			

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

3. Подготовь реагент «Энзимоллюм» и раствор ФМН для измерений согласно *Правилам обращения с реактивами*.

4. Произведи смывы с поверхности выбранных фруктов или овощей по следующей методике. Тщательно вымой и высуши руки. Помести анализируемый плод в чистую чашку, блюдо или любую другую емкость, в которой было бы удобно его помыть. Прилей с помощью мерного цилиндра 10 мл дистиллированной воды и смочи в ней плод. Затем аккуратно потри плод щеточкой в местах соприкосновения с водой для того чтобы лучше смыть все вещества с его поверхности. Помой весь фрукт или овощ таким образом, поворачивая его рукой. Достань плод из емкости. Смыв готов. В итоге у тебя должно получиться несколько разных смывов (по количеству фруктов и овощей).

5. Проведи 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 «Энзимоллюм»;

б) 300 мкл дистиллированной воды;

в) 10 мкл ФМН.

Всего проведи 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.

б. Запиши значения максимальной интенсивности свечения и посчитайте их среднее арифметическое, т. е. отношение суммы всех значений к их количеству (в нашем случае 4 или 5). I_k^1 – интенсивность свечения контрольного образца, первая кювета. I_k^2 – интенсивность свечения контрольного образца, вторая кювета и т. д., а среднее полученное значение обозначим I_k .

Максимальная интенсивность свечения:	
I_k^1	
I_k^2	
I_k^3	
I_k^4	
I_k^5	
Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения I_k (I_k среднее = $(I_k^1 + I_k^2 + I_k^3 + I_k^4 + I_k^5) / 5$)	

7. Аналогичным образом проведи по 4–5 измерений для каждого полученного смыва. Компоненты реакционной смеси, последовательно вносимые в кювету:

а) 1 диск реагента «Энзимолком»;

б) 300 мкл смыва;

в) 10 мкл ФМН.

8. Запиши в таблицу значения максимальной интенсивности свечения и посчитай их среднее арифметическое для каждой из проб. Полученные средние значения обозначим I_n^m , где n – номер пробы (например, смыв с огурца – это проба № 1), а m – номер измерения (кюветы) пробы номер n . Для каждой пробы необходимо провести по $m = 4–5$ измерений.

Проба 1 (фрукт/овощ 1)		Проба 2 (фрукт/овощ 2)		Проба 3 (фрукт/овощ 3)	
Максимальная интенсивность свечения		Максимальная интенсивность свечения		Максимальная интенсивность свечения	
I_1^1		I_2^1		I_3^1	
I_1^2		I_2^2		I_3^2	
I_1^3		I_2^3		I_3^3	
I_1^4		I_2^4		I_3^4	
I_1^5		I_2^5		I_3^5	
Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения		Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения		Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения	
I_1 среднее		I_2 среднее		I_3 среднее	

Проба 4 (фрукт/овощ 4)		Проба 5 (фрукт/овощ 5)		Проба 6 (фрукт/овощ 6)	
Максимальная интенсивность свечения		Максимальная интенсивность свечения		Максимальная интенсивность свечения	
I_4^1		I_5^1		I_6^1	
I_4^2		I_5^2		I_6^2	
I_4^3		I_5^3		I_6^3	
I_4^4		I_5^4		I_6^4	
I_4^5		I_5^5		I_6^5	
Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения		Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения		Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения	
I_4 среднее		I_5 среднее		I_6 среднее	

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

$$\text{ЛИТ}_n = \frac{I_k - I_n}{I_k} \times 100 \%,$$

где $n = 1, 2, 3$ (номер измерения исследуемой жидкости);

I_n – интенсивность свечения исследуемой жидкости номер n ;

I_k – среднее арифметическое интенсивности свечения контроля.

Если ЛИТ $> 30 \%$, то пробу следует считать загрязненной, если ЛИТ $< 30 \%$ – незагрязненной. Численное значение люциферазного индекса и вывод о загрязнении запиши в таблицу.

ЛИТ пробы 1	ЛИТ пробы 2	ЛИТ пробы 3

ЛИТ пробы 4	ЛИТ пробы 5	ЛИТ пробы 6

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

Вывод: _____

Занятие 6
Лабораторная работа № 4
ТЕСТИРОВАНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ

Цель: определить степень загрязнения почвы при помощи биолюминесцентного метода тестирования; сравнить результаты, полученные для почвы из чистой местности и загрязненных районов.

Для работы потребуется:

1. Прибор-биолюминометр.
2. Реагент «Энзимоллюм».
3. Дистиллированная вода.
4. Флавинмоноклеотид (ФМН).
5. Автоматические микропипетки с наконечниками.
6. Шпатель или пинцет.
7. Три емкости для проб почвы.
8. Ложка-шпатель (для отбора проб почвы).
9. Ступка и пестик.
10. Сито.
11. Лабораторные весы.
12. Три колбы с крышками.
13. Мерный цилиндр.
14. Стаканы.
15. Бумажные фильтры.



Ход работы:

1. Набери небольшое количество почвы в таком районе, который можно было бы считать незагрязненным: например, в лесу, парке, вдали от автомобильных дорог, железнодорожных путей и промышленных предприятий. Также набери еще две разные пробы в местах, уровень загрязнения которых тебе бы хотелось оценить. Это могут быть, например, участки, расположенные рядом с проезжей частью дороги, вблизи предприятий, ТЭЦ, животноводческих хозяйств. Таким образом, у тебя должно получиться три емкости с почвой, которые назовем «проба 1», «проба 2» и «проба 3». Внеси информацию о них в таблицу.

Образец	Место отбора, координаты	Источники загрязнения
Проба 1		
Проба 2		
Проба 3		

2. Уберите из полученных проб все камни, корни и прочий мусор. Дайте пробам высохнуть при комнатной температуре.

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

3. Затем для каждой из проб почвы проведи следующую процедуру пробоподготовки:

- а) разотри почву в ступке;
- б) просей через сито;
- в) тщательно перемешай;
- г) отмерь небольшое количество почвы при помощи лабораторных весов (не менее 5 граммов, но можно больше);

д) поместите почву в колбу и прилейте мерным цилиндром пятикратный объем дистиллированной воды (то есть, например, если ты взял 5 г образца почвы, то к нему нужно добавить 25 мл воды);

- е) закрой колбу крышкой и как следует взболтай в течение 10–15 минут (воспользуйся механической мешалкой, если есть такая возможность);
- ж) профильтруй полученный почвенный экстракт через бумажный фильтр;
- з) повтори фильтрацию несколько раз, чтобы цвет и мутность были такими, как после многократной заварки чайного пакетика.

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

5. Подготовь реагент «Энзимолюм» и раствор ФМН для измерений согласно *Правилам обращения с реактивами*.

6. Проведи 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 необходимо провести 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. Запиши в таблицу значения максимальной интенсивности свечения и посчитай их среднее арифметическое, то есть отношение суммы всех значений к их количеству (в нашем случае 4 или 5). I_k^1 – интенсивность свечения контрольного образа, первая кювета. I_k^2 – интенсивность свечения контрольного образа, вторая кювета и т. д. А среднее полученное значение обозначим I_k .

Максимальная интенсивность свечения:	
I_k^1	
I_k^2	
I_k^3	
I_k^4	
I_k^5	
Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения I_k $(I_k^1 + I_k^2 + I_k^3 + I_k^4 + I_k^5) / 5$	

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

- а) 1 диск реагента «Энзимолюм»;
- б) 300 мкл экстракта из почвы;
- в) 10 мкл ФМН.

9. Запиши в таблицу значения максимальной интенсивности свечения и посчитай их среднее арифметическое для каждой из проб. Полученные средние значения обозначим I_n^m , где n – номер пробы (например, почва, отобранная возле школы – это проба № 1), а m – номер измерения (кюветы) пробы номер n . Для каждой пробы необходимо провести по $m = 4–5$ измерений.

Проба почвы 1		Проба почвы 2		Проба почвы 3	
Максимальная интенсивность свечения		Максимальная интенсивность свечения		Максимальная интенсивность свечения	
I_1^1		I_2^1		I_3^1	
I_1^2		I_2^2		I_3^2	
I_1^3		I_2^3		I_3^3	
I_1^4		I_2^4		I_3^4	
I_1^5		I_2^5		I_3^5	
Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения		Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения		Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения	
I_1 среднее		I_2 среднее		I_3 среднее	

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

$$\text{ЛИТ}_n = \frac{I_k - I_n}{I_k} \times 100 \%,$$

где $n = 1, 2, 3$ (номер измерения исследуемой жидкости);

I_n – интенсивность свечения исследуемой жидкости номер n ;

I_k – среднее арифметическое интенсивности свечения контроля.

Если ЛИТ $> 30 \%$, то пробу следует считать загрязненной, если ЛИТ $< 30 \%$ – незагрязненной. Численное значение люциферазного индекса и вывод о загрязнении запиши в таблицу.

ЛИТ пробы 1	ЛИТ пробы 2	ЛИТ пробы 3

11. На основе полученных значений ЛИТ сделай вывод о том, загрязнены проанализированные пробы или нет. Есть ли различия между результатами, полученными для почвы из чистой местности и других исследованных районов?

Вывод: _____

Примечание. Допустимо разбиение хода работы на два этапа, то есть пункты 1–3 и 4–9 могут быть выполнены в разные дни. При этом приготовленные почвенные экстракты следует хранить в холодильнике в закрытых емкостях, время хранения не должно превышать 5 дней.

Занятие 7
Лабораторная работа № 5
ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Теперь предлагаем тебе самостоятельно составить лабораторную работу. Подумай, загрязнение чего ты хочешь измерить. Помни, что выбранный тобой объект должен быть жидким или с его поверхности можно было бы сделать смыв. Также ты можешь взять любую из предыдущих работ, но расширить и усложнить ее. Например: отобрать пробы снега в разных районах города, в разных точках в пределах одного парка; отобрать листья с разных видов деревьев, расположенных рядом; взять один вид фруктов, но разных поставщиков, какие только сможешь найти. Если придуманная тобой лабораторная работа будет обширной и выйдет за пределы одного занятия, то ты можешь продолжить ее в качестве учебно-исследовательского проекта. Итак, начнем.

Сперва придумай и запиши тему – название работы.

ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ _____

Теперь попробуй определить цель лабораторной работы. Что должно получиться в результате?

Цель: с помощью биоллюминесцентного метода тестирования _____

Опиши необходимые для лабораторной работы приборы и материалы.

Для работы потребуется:

1. Прибор-биоллюминометр
2. Реагент «Энзимоллюм»
3. Дистиллированная вода
4. Флавинмононуклеотид (ФМН)
5. Автоматические микропипетки с наконечниками
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____



Настало время описать ход работы. Сначала – что, как и где ты отбирал.

Ход работы:

1. _____

Заполни таблицу.

Образец	Описание образца	Место отбора / покупки	Дополнительные сведения
Проба 1			
Проба 2			
Проба 3			

Примечание. Если у тебя получилось много образцов и для них не хватило места, то просто напиши недостающую информации на чистом листе бумаги и приклей на данное место как вкладыш.

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

3. Подготовь реагент «Энзимолюм» и раствор ФМН для измерений согласно *Правилам обращения с реактивами*.

В следующем пункте необходимо описать, как тебе следует готовить образцы к исследованию. Для этого вспомни, что ты делал в данном пункте на других лабораторных работах.

4. _____

5. Проведи 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 проведи 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. Запиши значения максимальной интенсивности свечения и посчитай их среднее арифметическое, то есть отношение суммы всех значений к их количеству (в нашем случае 4 или 5). I_k^1 – интенсивность свечения контрольного образца, первая кювета. I_k^2 – интенсивность свечения контрольного образца, вторая кювета и т. д. А среднее полученное значение обозначим I_k .

Максимальная интенсивность свечения:	
I_k^1	
I_k^2	
I_k^3	
I_k^4	
I_k^5	
Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения I_k $(I_k^1 + I_k^2 + I_k^3 + I_k^4 + I_k^5) / 5$	

7. Аналогичным образом проведи по 4–5 измерений для каждого из образцов.

Компоненты реакционной смеси, последовательно вносимые в кювету:

- а) 1 диск реагента «Энзимолюм»;
- б) 300 мкл пробы;
- в) 10 мкл ФМН.

8. Запиши в таблицу значения максимальной интенсивности свечения и посчитай их среднее арифметическое для каждой из проб. Полученные средние значения обозначим I_n^m , где n – номер пробы (например, снег, отобранный возле школы – это проба №1), а m – номер

измерения (кюветы) пробы номер n . Для каждой пробы необходимо провести по $m = 4-5$ измерений.

Проба 1		Проба 2		Проба 3	
Максимальная интенсивность свечения		Максимальная интенсивность свечения		Максимальная интенсивность свечения	
I_1^1		I_2^1		I_3^1	
I_1^2		I_2^2		I_3^2	
I_1^3		I_2^3		I_3^3	
I_1^4		I_2^4		I_3^4	
I_1^5		I_2^5		I_3^5	
Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения		Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения		Среднее арифметическое максимальной интенсивности свечения	
I_1 среднее		I_2 среднее		I_3 среднее	

Примечание. Если у тебя получилось много образцов и для них не хватило места, то просто напиши недостающую информации на чистом листе бумаги и приклей на данное место как вкладыш.

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

$$\text{ЛИТ}_n = \frac{I_k - I_n}{I_k} \times 100 \%,$$

где $n = 1, 2, 3$ (номер измерения исследуемой жидкости);

I_n – интенсивность свечения исследуемой жидкости номер n ;

I_k – среднее арифметическое интенсивности свечения контроля.

Если ЛИТ $> 30 \%$, то пробу следует считать загрязненной, если ЛИТ $< 30 \%$ – незагрязненной. Численное значение люциферазного индекса и вывод о загрязнении запиши в таблицу.

ЛИТ пробы 1	ЛИТ пробы 2	ЛИТ пробы 3

Примечание. Если у тебя получилось много образцов и для них не хватило места, то просто напиши недостающую информации на чистом листе бумаги и приклей на данное место как вкладыш.

10. Проанализируй полученные результаты. Удалось ли тебе выявить загрязнение? Что еще ты можешь сказать в результате проделанной работы? Сделай выводы.

Вывод: _____

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Экологическая биофизика : научно-педагогическое издание : в 3 т. Т. 1 Фото-биофизика экосистем / под общ. ред. И. И. Гительзон, Н.С. Печуркин. – М. : Логос, 2001. – 350 с.
2. Фотобиофизика : учеб. пособие / В. А. Кратасюк, И. Е. Суковатая, Е. В. Немцева и др. – 413 с. – (Фотобиофизика : УМКД № 141-2007 / рук. творч. коллектива В. А. Кратасюк).
3. Байрамов, В. М. Основы химической кинетики и катализа : учеб. пособие / В. М. Байрамов. – М. : Академия, 2003. – 256 с.
4. Березин, И. В. Имобилизованные ферменты / И. В. Березин, Н. Л. Клячко, А. В. Левашов, К. Мартинек : в 8 кн. // Биотехнология. – М. : Высшк. шк., 1987. – 159 с.
5. Березов, Т. Т., Биологическая химия : учеб. для мед. вузов / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. – М. : Медицина, 1982. – 752 с.
6. Варфоломеев, С. Д. Химическая энзимология : учеб. / С. Д. Варфоломеев. – М. : Академия, 2005. – 480 с.
7. Гавриленко, В. Ф. Большой практикум по физиологии растений / В. Ф. Гавриленко, М. Е. Ладыгина, Л. М. Хандобина. – М. : Высш. шк., 1975.
8. Гительзон, И. И. Светящиеся бактерии : учеб. / И. И. Гительзон, Э. К. Родичева, С. Е. Медведева. – Новосибирск : Наука, 1984. – 275 с.
9. Гурский, И. П. Элементарная физика / И. П. Гурский. – М. : Наука, 1973.
10. Есимбекова, Е. Н. Сравнение иммобилизованной и растворимой биферментной системы NADH: FMN-оксидоредуктаза-люцифераза // Биохимия. – К., 2009. – Т. 74. – Вып. 6. – С. 853–859.
11. Кнорре, Д. Г. Биологическая химия : учеб. для хим., биол. и мед. спец. вузов / Д. Г. Кнорре, С. Д. Мызина. – 3-е изд., испр. и доп. – М. : Высш. шк. 2002. – 479 с., ил.
12. Колтун, М. Мир физики / М. Колтун. – М. : Детская литература, 1987.
13. Кратасюк, В. А. Бактериальная билюминесценция и билюминесцентный анализ / В. А. Кратасюк, И. И. Гительзон // Биофизика. – 1982. – Т. 27. – Вып. 6. – С. 937–953.
14. Кратасюк, В. А. Свойства иммобилизованной в крахмальный гель люциферазы / В. А. Кратасюк // Люминесцентный анализ в медико-биологических исследованиях : сб. науч. ст. – Рига : РМИ, 1986. – С. 93–97.
15. Кратасюк, В. А. Использование светящихся бактерий в билюминесцентном анализе / В. А. Кратасюк, И. И. Гительзон // Успехи микробиологии, 1987. – № 21. – С. 3–30.
16. Кубасов, А. А. Химическая кинетика и катализ : учеб. пособие / А. А. Кубасов. – М. : МГУ, 2004. – 144 с.
17. Кудряшева, Н. С. Закономерности ингибирования бактериальной билюминесценции *in vitro* хинонами и фенолами – компонентами сточных вод / Н. С. Кудряшева, Е. В. Шалаева, Е. Н. Задорожная, В. А. Кратасюк // Биофизика, 1994. – Т. 39, № 3. – С. 455–464.
18. Кудряшева, Н. С. Физико-химические основы билюминесцентного анализа [Электронный ресурс] / Н. С. Кудряшева, В. А. Кратасюк, Е. Н. Есимбекова. – Красноярск : КрасГУ, 2002. – 154 с. – URL : http://window.edu.ru/window/catalog?p_rid=26509.
19. Ленинджер, А. Л. Основы биохимии : учеб. / А. Л. Ленинджер. – М. : Мир, 1985. – 369 с.
20. Либберт, Э. Физиология растений / Э. Либберт. – М. : Мир, 1976.
21. Орлов, Д. С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации / Д. С. Орлов. – М. : Изд-во МГУ, 1990.
22. Панченко, Г. М. Химическая кинетика и катализ : учеб. пособие / Г. М. Панченко, В. П. Лебедев. – М. : Химия, 1985. – 592 с.

23. Перминова, И. В. Гуминовые вещества в контексте зеленой химии. Зеленая химия в России [Электронный ресурс] / И. В. Перминова, Д. М. Жилин ; под ред. В. В. Лунина, П. Тундо, Е. С. Локтевой – М. : Изд-во МГУ, 2004. – С. 146–162. – URL : www.mgumus.chem.msu.ru/publication/2004/perminova-guminovye-04.pdf.
24. Римацкая, Н. В. Биоллюминесцентный практикум для формирования исследовательской компетенции школьников / Н. В. Римацкая, О. С. Сутормин, Т. С. Денисова, Г. В. Иванова, В. А. Кратасюк // Вестник СибГАУ, 2013. – Вып. № 5 (45). – С. 167–170.
25. Каталог культур светящихся бактерий / сост. Э. К. Родичева, С. Е. Медведева, Г. А. Выдрякова; под ред. Э. К. Родичева. – Новосибирск : Наука, СО, предпр. РАН. 1997. – 125 с.
26. Рубин, Б. А. Курс физиологии растений / Б. А. Рубин. – М. : Высш. шк., 1976.
27. Рубин, А. Б. Биофизика : учеб. / А. Б. Рубин. – М. : Физматлит, 1999. – 433 с.
28. Скурихин, И. М. Как правильно питаться / И. М. Скурихин, В. А. Шатерников. – М. : Агропромиздат, 1986.
29. Тарчевский, И. А. Основы фотосинтеза / И. А. Тарчевский. – М. : Высш. шк., 1977.
30. Тривен, М. Имобилизованные ферменты / М. Тривен. – М. : Мир, 1983. – С. 213.
31. Тушкова, Г. И. Экотоксикологическая оценка поверхностных и подземных вод Алтайского края / Г. И. Тушкова, Л. С. Эрнестова, И. В. Семенова, Н. А. Рябченко // Ядерные испытания, окружающая среда, здоровье населения Алтайского края. – Барнаул: Изд-во АГУ, 1993. – Т. 2, кн. 2. – С. 112–123.
32. Тюкавкина, А. Н. Биоорганическая химия : учеб. / А. Н. Тюкавкина, С. Е. Бауков. – М. : Медицина, 1991. – 235 с.
33. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии : учеб. / Ю. Б. Филиппович. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Высш. шк., 1985. – 503 с., ил.
34. Цыперович, А. С. Ферменты (основы химии и технологии) : учеб. / А. С. Цыперович. – Киев : Техника, 1971. – 360 с.
35. Келети, Т. Основы ферментативной кинетики / Т. Келети. – М., Мир, 1990. – 350 с.
36. Финкельштейн, А. В. Физика белка : курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями / А. В. Финкельштейн, О. Б. Птицын. – 2-е изд. – М. : Университет, 2002. – 376 с.
37. Шеховцова, Т. Н. Ферменты: их использование в химическом анализе / Т. Н. Шеховцова // Сорос. образов. журнал. 2000. – Т. 6, № 1. – С. 44–48.
38. Биохимия : учеб. / под ред. Е. С. Северина. – 2003. – 779 с. (С. 97–102). – ISBN 5-9231-0254-4.
39. Суковатая, И. Е. Кинетические методы исследования биологических процессов 1. Стационарная и не стационарная кинетика ферментативных реакций. Специфичность : метод. указания / И. Е. Суковатая, В. А. Кратасюк. – Красноярск : Сибир. федер. ун-т, 2007.
40. Суковатая, И. Е. Кинетические методы исследования биологических процессов 2. Определение кинетических параметров и типов взаимодействия ферментов с эффекторами : метод. указания / И. Е. Суковатая, В. А. Кратасюк. – Красноярск : Сибир. федер. ун-т, 2007.
41. Электронный фотобиологический справочник [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.photobiology.info>.
42. Фотобиофизика. Презентационные материалы. Версия 1.0 [Электронный ресурс] : наглядное пособие / И. Е. Суковатая [и др.]. – Красноярск : ИПК СФУ, 2008.
43. Shimomura, O. Bioluminescence : chemical principles and methods / O. Shimomura // World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2006. – P. 455.

44. Esimbekova, E. N. Disk-shaped immobilized multicomponent reagent for bioluminescent analyses: Correlation between activity and composition / E. N. Esimbekova, V. A. Kratasyuk, I. G. Trgashina // *Enzyme and microbiological technology*, 2007. – P. 343 – 346.
45. Esimbekova, E. N. Bioluminescent express method for determining the integral toxicity of water and air pollution / E. N. Esimbekova, N. V. Rimatskaya, I. E. Sukovataya, V. A. Kratasyuk // *Bulletin of the Orenburg State University*, 2013. – № 10. – C. 122–127.
46. Hastings, J. W. *Methods in Enzymology*, 360 / J. W. Hastings, C. H. and Johnson. – 2003. – Vol. 360. – C. 75–105.
47. Kratasyuk, V. A. Polymer Immobilized Bioluminescent System for Biosensor and Bioinvestigations / V. A. Kratasyuk, E. N. Esimbekova // *PBM Series*. – 2003. – Vol. 1. – P. 307–341.
48. Kratasyuk, V., and Esimbekova, E. In *Polymeric Biomaterials. The PBM Series*. (Arshady, R., ed.). – Citus Books, London, 2003. – Vol. 1. – C. 301–343.
49. Rimatskaia, N. V. Bioluminescent assays for monitoring of air pollution / N. V. Rimatskaia, E. V. Nemtseva, V. A. Kratasyuk // *Luminescence*. – 2012 – Vol. 27, № 2. – P. 154.
50. Rimatskaia, N. Bioluminescent enzymatic toxicity bioassay: from idea to laboratory / N. Rimatskaia, V. Kratasyuk, E. Esimbekova // *ICEI2013 Proceedings*, 2013. – P. 65.

Учебное издание

Римацкая Надежда Валерьевна,
Колосова Елизавета Маратовна,
Говорун Анна Евгеньевна,
Казакбиева Анастасия Евгеньевна
Кратасюк Валентина Александровна

БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ПРАКТИКУМ

Рабочая тетрадь для учащихся

Редактор М. Г. Азнагулова
Верстка Н. В. Шадринной

Подписано в печать 21.11.2022. Формат 60 × 84/8
Усл. печ. л. 4,7. Уч.-изд. л. 3,5. Тираж 200. Заказ № 196

Оригинал-макет подготовлен и отпечатан
в Издательском центре СурГУ
Тел. (3462) 76-30-65, 76-30-66, 76-30-67

БУ ВО «Сургутский государственный университет»
628400, Россия, Ханты-Мансийский автономный округ,
г. Сургут, пр. Ленина, 1
Тел. (3462) 76-29-00, факс (3462) 76-29-29