

**В.А. Филонюк,
*Т.И. Петрова-Соболь,
*И.П. Семенов,
*Д.Ю. Осмоловский,
**Г.В. Пироговская*

Токсиколого-гигиеническая оценка нового комплексного бесхлорного удобрения «Калийфос-N»

**Белорусский государственный медицинский университет,
**Республиканское научное дочернее унитарное предприятие «Институт
почвоведения и агрохимии» (РУП «Институт почвоведения и агрохимии»)*

К производству, реализации и применению допускаются пестициды и агрохимикаты, прошедшие в установленном порядке государственную регистрацию по результатам комплексных токсиколого-гигиенических испытаний, направленных на предотвращение возможного негативного влияния на здоровье людей и среду обитания. Данные требования распространяются на удобрения (органические, минеральные, органо-минеральные, удобрения на основе осадков сточных вод и на основе отходов производства), химические мелиоранты, почвогрунты, торфогрунты и искусственные субстраты для защищенного грунта, кормовые добавки, предназначенные для питания растений, регулирования плодородия почв и подкормки животных и др. [1]. Регистрационные испытания включают в себя, в том числе, токсикологические эксперименты по оценке вредного действия пестицидов и агрохимикатов на организм теплокровных животных. В рамках ГНТП «Агропромкомплекс – возрождение и развитие села» (задание 03.02 «Разработать новые формы комплексных удобрений, сбалансированных по соотношению элементов питания для основных сельскохозяйственных культур») Республиканским научным дочерним унитарным предприятием «Институт почвоведения и агрохимии» (РУП «Институт почвоведения и агрохимии») разработано новое твердое комплексное азотно-фосфорно-калийное бесхлорное удобрение «Калийфос-N», представляющее собой сложную сухую композицию с определенным содержанием общего азота, общих фосфатов, калия (в пересчете на K₂O), серы, микроэлементов (магния, бора).

С целью установления безопасности для живого организма проведены токсикологические исследования образца удобрения, которые включали определение токсичности и потенциальной опасности острого отравления и установление величины среднесмертельной дозы при внутрижелудочном (DL₅₀ per os) или накожном (DL₅₀ cut) воздействии, выявление половой резистентности, местно-раздражающих (кожно-раздражающих и ирритативных) свойств, способности к кумуляции и кожной резорбции в субхроническом (месячном) эксперименте.

В опытах по токсикологической оценке удобрения «Калийфос-N» использовано 2 вида лабораторных животных обоего пола – белые крысы

линии Vistar с исходной массой 180-220 г и кролики породы «Шиншилла» массой 2-4 кг. Животные получены из питомника УО «Белорусский государственный медицинский университет», перед экспериментом прошли двухнедельный карантин и содержались на стандартном рационе вивария. Исследования проведены в соответствии с действующими нормативно-методическими документами [3, 5].

Статистическая обработка данных реализована на IBM-совместимых персональных компьютерах с применением пакетов прикладных программ для медико-биологических исследований «Stadia 3.11» и «Microsoft Excel». Определяли средние арифметические величины M , средние квадратические ошибки m , доверительные коэффициенты Стьюдента t с предшествующей проверкой нормальности распределения рядов данных в изучаемых выборках [4].

Исследования по выявлению токсических свойств удобрения «Калийфос-N» при внутрижелудочном и эпикутанном поступлении в остром эксперименте проводили на 16 половозрелых белых крысах обоего пола (8 самцов и 8 самок). С этой целью голодным (последнее кормление за 24 часа до воздействия) животным опытной группы внутрижелудочно вводили 25% взвесь предварительно измельченного механическим способом до однородной порошкообразной массы образца удобрения. Ввиду возможного наличия у удобрения раздражающих свойств на слизистую оболочку желудка, что могло исказить реальную картину отравления, в качестве растворителя (разбавителя) использовали 1% крахмальный клейстер. Животные контрольной группы внутрижелудочно получали 1% крахмальный клейстер. Введения осуществляли дробными дозами с интервалом в 30 минут из расчета 7500 мг сухого вещества на кг массы животного. Кормление животных проводилось спустя 3 часа после введения последней дозы.

Для выявления острой эпикутанной токсичности на выстриженный участок площадью 20 см² кожи спины крыс наносили и затем втирали стеклянной палочкой массирующими движениями 50% водную взвесь предварительно измельченного удобрения «Калийфос-N» в дозе 2500 мг сухого препарата на килограмм массы животного. Животным контрольной группы апплицировали дистиллированную воду. Для предотвращения слизывания белых крыс фиксировали в специальных домиках на 4 часа, после чего остатки препаратов удаляли ватным тампоном, смоченным в дистиллированной воде.

При определении параметров острой токсичности за животными наблюдали ежечасно в первые 8 часов после воздействия последней дозы препарата, в последующие 14 суток – ежесуточно, при этом обращали внимание на поведение животных, внешний вид, наличие аппетита, степень проявления реакции на внешние раздражители и другие симптомы интоксикации.

Однократное внутрижелудочное введение белым крысам удобрения в дозе 7500 мг/кг не вызывало гибели опытных животных. Непосредственно после введения препарата животные опытной и контрольной групп были возбуждены, агрессивны, спустя 5-10 минут возбуждение сменялось

некоторым торможением, животные сбивались в угол клетки. В течение всего периода наблюдений (2 недели) поведение животных опытной группы не отличалось от контрольной (за исключением повышенного – на 10-15% – водопотребления в первые двое суток после воздействия). Отсутствие гибели лабораторных животных не позволило установить среднесмертельную дозу, $DL_{50} \text{ per os} > 7500 \text{ мг/кг}$. Следовательно, удобрение «Калийфос-N» относится к малоопасным веществам IV класса опасности согласно [2].

Однократные эпикутанные аппликации удобрения «Калийфос-N» в дозе 2500 мг/кг не вызывали симптомов интоксикации на всем протяжении эксперимента, крысы оставались активными, охотно поедали корм. Гибели животных не зарегистрировано, что позволило классифицировать удобрение «Калийфос-N» по опасности вызывать острые отравления при эпикутанном воздействии как малоопасное вещество IV класса согласно [2] ($DL_{50} \text{ cut} > 2500 \text{ мг/кг}$).

Половой чувствительности к удобрению «Калийфос-N» не выявлено.

О способности материала к кумуляции судили по результатам подострого опыта, при котором внутрижелудочно вводили белым крысам испытуемый образец удобрения в дозе 750 мг/кг (0,1 дозы от максимально введенной в остром опыте). Препарат вводили в течение месяца (5 раз в неделю с перерывом в субботу и воскресенье), использовали 10% водные взвеси измельченного удобрения «Калийфос-N», животным контрольной группы в адекватных объемах вводили дистиллированную воду.

В ходе эксперимента регистрировали клинические симптомы интоксикации, суммационно-пороговый показатель, температуру тела, динамику прироста массы тела. Выводили животных из эксперимента методом мгновенной декапитации, что сопровождалось забором внутренних органов (легкие, сердце, печень, почки, надпочечники, селезенка, желудок), их макроскопией, крови, других биологических жидкостей, определением (общепринятыми методами) в них активности ряда ферментов, содержания некоторых субстратов.

На всем протяжении эксперимента животные охотно поедали корм, были активны, имели гладкий блестящий шерстный покров, поведение особей из опытной группы не отличалось от такового у контрольной. На 1-4 неделях исследований не отмечено статистически достоверных различий в температуре и массе тела экспериментальных животных. Обращает на себя внимание некоторое снижение массы тела животных обеих групп после 1-2 недель опыта (что мы объясняем стрессовой реакцией на манипуляции по введению растворов) со стабилизацией после третьей недели.

Суммационно-пороговый показатель у животных опытной и контрольной групп не отличался, что свидетельствует об отсутствии функциональных нарушений в ЦНС. В то же время, выявлены статистически значимые различия показателей состояния крови и мочевыделительной системы опытных и контрольных белых крыс.

Гемотоксическое действие удобрения «Калийфос-N» проявляется в достоверном ($t > 3$, $p < 0,01$) снижении содержания лейкоцитов и абсолютного содержания лимфоцитов.

Статистически значимые снижение относительных коэффициентов масс почек ($t > 2$, $p < 0,05$), уменьшение концентрации в моче белка ($t > 2$, $p < 0,05$) и хлоридов ($t > 3$, $p < 0,01$), снижение суточного выведения белка с мочой ($t > 3$, $p < 0,01$) свидетельствуют о нарушении функционирования мочевыделительной системы, которое в свою очередь привело к достоверно большему содержанию мочевины в сыворотке крови животных опытной группы ($t > 3$, $p < 0,01$).

20-кратное дозозамонотонное введение 10% взвеси исследуемого образца удобрения «Калийфос-N» в дистиллированной воде в течение месяца в дозе 750 мг/кг в остром эксперименте не привело к гибели животных опытной группы, что не позволило рассчитать коэффициент кумуляции: образец удобрения относится к веществам со слабой кумулятивной активностью (коэффициент кумуляции > 5).

Изучение раздражающих кожные покровы свойств проводили путем однократных четырехчасовых аппликаций на выстриженные участки кожи спины белых крыс площадью 16 см² (4x4 см). В опыте использовали самцов с чистой здоровой кожей без механических повреждений. 50% водную взвесь измельченного «Калийфос-N» наносили в стандартной дозе 20 мг/см². Контролем служили симметрично расположенные на другой стороне спины «кожные окошки», на которые воздействовали дистиллированной водой. Оценку функционального состояния кожи на опытном и контрольном участках кожи каждого животного проводили спустя сутки после аппликации по выраженности отека (нарастанию толщины кожной складки по сравнению с фоном) и по степени выраженности эритемы. Степень нарастания отека и эритемы выражали в баллах в соответствии с [5], суммировали для каждого животного в отдельности и вычисляли среднегрупповой общесуммарный балл выраженности кожно-раздражающего действия.

При однократных аппликациях 50% водной взвеси удобрения «Калийфос-N» на неповрежденные участки кожи белых крыс площадью 16 см² в дозе 20 мг/см² не выявлено признаков раздражения кожных покровов (эритемы и отека), среднегрупповой общесуммарный балл выраженности кожно-раздражающего действия равнялся 0 баллов, образец относится к 0 классу веществ по выраженности местного раздражающего кожно-раздражающего действия согласно [5].

В серии экспериментов оценивали способность удобрения «Калийфос-N» к проникновению через неповрежденные кожные покровы и вызывать отравления при многократном воздействии. С этой целью 2/3 хвоста белых крыс опытной группы на 4 часа 5 раз в неделю в течение месяца погружали в пробирки с 50% водной взвесью препарата. Хвосты животных контрольной группы погружали в дистиллированную воду. Наблюдение за животными, выведение из эксперимента, забор биологического материала аналогичны таковым при выявлении кумулятивных свойств.

На всем протяжении опыта экспериментальные животные охотно поедали корм, были активны, имели гладкий блестящий шерстный покров, поведение особей опытной группы не отличалось от контрольной. Динамика температуры и массы тела, величины сумационно-порогового показателя у животных опытной группы соответствовала величинам в контроле и повторяла таковую при субхроническом внутрижелудочном воздействии.

20-кратные погружения 2/3 хвостов белых крыс в 50% водную взвесь удобрения «Калийфос-N» в течение месяца (5 раз в неделю) не вызывало гибели животных опытной группы, что свидетельствует об отсутствии резорбции через неповрежденную кожу массивных доз препарата, могущих привести к летальным исходам. На 2-3 неделях опыта отмечены некоторая сухость и шелушение кожи на месте аппликаций, что может свидетельствовать о потенциальных кожно-раздражающих свойствах изучаемого удобрения при многократных нанесении.

Сущность метода по выявлению раздражающих слизистые оболочки свойств заключается в регистрации изменений функционального состояния слизистой оболочки и конъюнктивы глаз лабораторных животных при внесении определенной дозы испытуемого образца, что адекватно характеризует опасность его воздействия на слизистые оболочки других органов (полости рта, верхних дыхательных путей, пищеварительного тракта). С целью определения раздражительного действия удобрения в нижний конъюнктивальный свод правого глаза каждого кролика, взятого в эксперимент инстилляции дозатором 50% водную взвесь измельченного «Калийфос-N» в объеме 0,05 см³. Левый глаз при этом служил контрольным, куда вносили дистиллированную воду.

Визуальное наблюдение за состоянием слизистой оболочки и конъюнктивы глаз подопытных животных осуществляли на протяжении суток с регистрацией признаков раздражения через 1 час и ежедневно в течение последующих двух недель после воздействия, оценивая в баллах степень выраженности гиперемии, отека и выделений в соответствии с [5] для каждого взятого в эксперимент животного. В последующем находили среднесуммарный балл выраженности раздражительного действия.

Однократные инстилляции 50% водной взвеси удобрения «Калийфос-N» сопровождались минимальным количеством выделений в углу глаза у 33% кроликов, взятых в эксперимент; среднесуммарный балл выраженности раздражительного действия равнялся 0,33 балла, что позволило отнести удобрение «Калийфос-N» к 1 классу веществ по выраженности раздражительного действия. Симптомы раздражения слизистой оболочки глаз исчезли через 48 часов после инстилляций.

Таким образом, твердое комплексное бесхлорное азотно-фосфорно-калийное удобрение с микроэлементами «Калийфос-N» не представляет опасности в плане возможности острого отравления при его внутрижелудочном и эпикутанном поступлении (относится к малоопасным веществам IV класса опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76); обладает слабой кумулятивной активностью и слабо выраженными кожно-резорбтивными свойствами и

вызывает изменение отдельных показателей мочи и периферической крови лабораторных животных в месячном эксперименте; не раздражает кожные покровы (0 класс веществ по выраженности кожно-раздражающего действия), слабо раздражает слизистые оболочки (I класс по выраженности ирритативного действия), заведомо не обладает сенсibiliзирующими свойствами.

Литература

1. Гигиенические требования к хранению, применению и транспортировке пестицидов и агрохимикатов: СанПиН 2.2.3.12-17-2003 / С.М.Соколов, А.И.Котеленец, О.П.Клочкова и др. // Утв. МЗ РБ 10.12.2003 г. – 57 с.
2. ГОСТ 12.1.007-76 «Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности».
3. Оценка воздействия вредных химических веществ на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнений кожи: Инструкция 1.1.10-13-56-2005 / В.А.Филонюк, Н.Е.Боровская, В.В.Шевляков, Т.И.Петрова-Соболь // Утв. МЗ РБ 14.11.2005 г. – 23 с.
4. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Высш. школа, 1973. – 320с.
5. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ: Инструкция 1.1.11-12-35-2004 / Л.В.Половинкин, В.В.Шевляков, Е.С.Юркевич и др. // Утв. МЗ РБ 14.12.2004 г. – 41с.