лнечника накапливают кадмий и медь в 3,6 и 1,02 раза выше ПДК соответственно; семена озимого рапса – свинец и кадмий в 1,26 и 1,4 раза выше ПДК соответственно; зерно озимой пшеницы и ярового ячменя – свинец в 2,1 раза выше ПДК.

Ключевые слова: минеральные удобрения, норма, зерно, загрязнение, тяжелые металлы.

Intensive chemistry of earth – as a precondition for the pollution of grain production by high-speed metals

Rasanov S., Tkachuk O.

The actual norms of mineral fertilizers under the main crops in advanced farms are determined. The relationship between the main power elements with a significant advantage of nitrogen is established. The expense of mineral fertilizers of fertilizers for the formation of a unit of grain crops is calculated. The concentration of heavy metals in grain mass of main crops depending on the intensity of chemicalization of technological processes is determined.

The analysis of the intensity of contamination by heavy metals of grain products showed that the concentration of lead in winter wheat grains, spring barley and winter wheat rape was 2.1 times higher than MPC, 2.14 and 1.26 times respectively, while in corn and seed grain the concentration of lead was lower than the MPC in 4.16 times and 2.12 times respectively.

The content of lead in the grain mass of the main field crops was 0.24 – 1.26 mg / kg at the limit of the permissible concentration for winter wheat and barley 0.5 mg / kg and the rest of the crops – 1.0 mg / kg. The highest concentration of lead was detected in winter wheat, winter wheat grains and spring barley, and the smallest in corn and sunflower seeds.

The concentration of cadmium in sunflower seeds and winter rape exceeded the MPC by 3.6 and 1.4 times respectively, while in winter wheat and corn and spring barley, 2 and 1.1 times lower MAC. The actual content of cadmium in the grain mass of the cultures underthe investigation was 0.05-0.36 mg / kg with an MPC of 0.1 mg / kg.

The concentration of copper in sunflower seeds was 1.02 times higher than the MPC, and in the grain mass of the remaining crops, the lower MPC, in particular, in the seeds of winter rape, winter wheat grains and spring barley, was 3.41 times, 3.75 and 4 , 24 times respectively, and in maize grain – 13.34 times less than MAC. The actual concentration of copper was 0.75 – 10.2 mg / kg.

The concentration of zinc in the grain of all crops was lower than the MPC – from 2.5 times in the seeds of winter rape – up to 4 times in corn grain. The actual content of zinc in the grain weight of all crops was 12.5 – 20.0 mg / kg. Most zinc was found in winter wheat seeds, and the smallest in maize and barley.As a result of the conducted researches it was established that at growing of winter rape in the farms of the region the highest norms of nitrogen mineral fertilizers are used, that leads to the greatest imbalance between the main elements of nutrition. This causes the highest cost of synthetic fertilizers on the formation of a unit of rape seed and makes the highest pollution of seeds with lead and zinc. High concentration of mineral fertilizers, which is introduced in the farms of Vinnytsya in sunflower, causes the highest concentration in its seeds of cadmium and copper. Despite the high rate of application of mineral fertilizers for corn, the concentration of all heavy metals in its grain is minimal, which is due to high corn yield, lower mineral content per unit of grown products and a long vegetation period.

Key words: mineral fertilizers, norm, grain, pollution, heavy metals.

Надійшла 26.09.2017 р.

УДК 577.188:599.323.4

РИВАК Р. О., аспірант
МЕРЗЛОВ С. В., д-р с.-г. наук
Білоцерківський національний аграрний університет

ВИВЧЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ І ВСТАНОВЛЕННЯ КЛАСУ ТОКСИЧНОСТІ КОРМОВОЇ ДОБАВКИ З ПРІСНОВОДНОЇ ВОДОРОСТІ *LEMNA MINOR* ЗБАГАЧЕНОЇ ЙОДОМ

Обґрунтовано необхідність проведення токсикологічних досліджень та встановлення класу токсичності кормової добавки з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом, описано нові підходи і застосовані методи, що відповідають європейським вимогам до проведення таких досліджень.

В результаті проведених досліджень встановлено, що добавка не зумовлює подразнювалюної та дермонекротичної дії за нанесення на шкіру кролів, а також не спричинює подразнювальної дії за нанесення на слизову оболонку ока у кроля. Встановлено, що кормова добавка з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом належить до 5 класу токсичності згідно з УГС (Узгоджена на глобальному рівні система класифікації та маркування).

Ключові слова: кормова добавка, Lemna minor, подразнювальна дія, дермонекротична дія, слизова оболонка, гостра токсичність, токсична дія, лабораторні тварини.

Постановка проблеми. В умовах віварію Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок розроблений біотехнологічний спосіб збагачення біомаси водорості Lemna minor Йодом. Цю біомасу водорості планують використо-

© **Ривак Р.О., Мерзлов С.В.,** 2017.

вувати як кормову добавку до комбікормів, премісів та БВМД для сільськогосподарських тварин та птиці. Умови використання нових кормових добавок передбачають визначення їх подразнювальної дермонекротичної дії, гострої токсичності тощо.

Аналіз останіх досліджень і публікацій. На сьогодні наукові співтовариства і регуляторні агенції розвинених країн приділяють величезну увагу встановленню безпеки і спектру токсичної дії лікарських препаратів, різних продуктів біотехнології і наноматеріалів. За міжнародними вимогами випробування безпеки (токсичності) різних речовин на живих системах (людини, тварин, екосистем) здійснюються відповідно до гармонізованих методичних рекомендацій Організації економічного співробітництва і розвитку (OECD) та Міжнародної конференції з гармонізації (ICH). Концепція LD_{50} вперше була запропонована в 1927 році для встановлення токсичності біологічно активних компонентів [1]. З того часу і до кінця 70-х років XX ст. тест для визначення LD_{50} було розкритиковано, як з позицій науки, так і захисників тварин [2, 3]. Традиційні методи оцінки гострої токсичності використовують загибель тварин як завершальну точку досліджень. У 1984 році Британською Асоціацією Токсикології було запропоновано новий підхід до визначення гострої токсичності, який ґрунтується на серії фіксованих рівнів доз [4, 5]. Цей підхід запобігає використанню загибелі тварин, як завершальної точки проведення досліджень і покладається на спостереження за ознаками токсичності в одному з рядів фіксованих рівнів дози.

Встановлення токсичної дії добавки проводять шляхом одноразового введення (або повторних через малі інтервали часу протягом доби) в організм лабораторних тварин і визначення максимально толерантних, токсичних і летальних доз. У діапазоні летальних доз та концентрацій основним показником токсичності є найбільш статистично точна величина, яка спричинює загибель, або ефект у 50,0 % піддослідних тварин (DL_{50}, CL_{50}, DE_{50}).

Показники цих величин дають кількісну характеристику токсичної дії речовини на організм і використовуються для її класифікації за токсичністю. Ці дані можуть слугувати за основу для визначення класу токсичності і є першим кроком до встановлення режимів дозування за проведення досліджень підгострої, хронічної, специфічної токсичності та інших випробувань, а також надавати первинну інформацію про токсичну дію речовини.

Метою досліджень було вивчення подразнювальної дії кормової добавки з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом на шкірі та слизовій оболонці ока у кроля, вивчення гострої токсичності та встановлення класу токсичності добавки на лабораторних щурах, для безпечного її застосування в подальшому.

Матеріал і методи досліджень. Досліди з вивчення токсичної дії кормової добавки з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом проводили в умовах віварію ДНДКІ на лабораторних тваринах (кролях і білих щурах-аналогах).

Експериментальні дослідження для визначення шкірно-подразнювальної дії кормової добавки проводили на 5-ох кролях масою тіла 2-2,5 кг. В день проведення дослідження, у кролів у ділянці лопатки вистригали шкіру розміром 6х6 см. Правий бік використовували для аплікації суспензії кормової добавки, а лівий – для контролю. На вистрижену ділянку шкіри кроля скляною лопаткою наносили половину екстракту, решту залишали для повторного нанесення наступної доби (рис. 2).

Піддослідних тварин розміщували в індивідуальних клітках, для попередження злизування кролем екстракту, на шию одягали комірець, який знімали через 3 доби. Клінічні спостереження проводити через добу після повторного нанесення екстракту і продовжували протягом 3–5 діб. Залишки досліджуваного засобу змивали з поверхні шкіри теплою водою з господарським милом. Шкіру підсушували ватно-марлевим тампоном. Функціональний стан шкіри в ділянці аплікації оцінювали за наявністю та ступенем запального процесу: 1) наявність гіперемії (не більше 2 діб після нанесення), що не супроводжується лущенням шкіри; 2) болючість та набряк (з незначним потовщенням шкіри з наступним утворенням окремих лусочок); 3) наявність різкої гіперемії, болючості, зморщування і набряку шкіри (значним потовщенням шкіри, на всій ділянці аплікації).

За визначення подразнювальної дії кормової добавки на слизову оболонку ока використовували 3-х кролів, яким вносили суспензію досліджуваного засобу в кількості 0,1 мл у кон'юнктивальний мішок лівого ока (рис. 3), при цьому протягом 1 хв притискали слізно-

носовий канал. Праве око слугувало контролем. Після проведеної маніпуляції через 1, 24, 48, 72 години та до 14 доби проводили ретельний огляд очей.

Також проводили визначення подразнювальної дії добавки на слизову оболонку ока додатковим методом. Кормову добавку в нативному вигляді за допомогою шпателя наносили на слизову оболонку лівого ока кроля. Спостереження очей проводили через 1, 24, 48, 72 години та до 14 доби.

Оцінку подразнювальної дії досліджуваної добавки на слизову оболонку ока проводили за наявністю вираженої гіперемії, набряку та виділень згідно бальною системою наведеної в таблиці 1.

Таблиця 1 – **Шкала оцінки подразнювальної дії досліджуваних речовин на слизову оболонку очей у кролів**

Клінічний прояв	Бал
А. Гіперемія кон'юнктиви та рогівки	
1. Судини ін'єковані	1
2. Окремі судини погано проглядаються	2
3. Дифузне глибоке почервоніння	3
Б. Набряк повік	
1. Незначний набряк	1
2. Виражений набряк з частковим виверненням повіки	2
3. Значний набряк, око закрите наполовину	3
4. Око закрите більше як наполовину	4
В. Виділення	
1. Мінімальна кількість в кутику ока	1
2. Кількість виділень зволожує повіку	2
3. Кількість виділень зволожує повіку та шкіру навколо	3

Вивчення гострої токсичності та встановлення класу токсичності кормової добавки з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом було проведено методом: "Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP)" OECD Test № 423 метою збереження тварин та дотримання біоетичних вимог.

Принцип методу визначення класу токсичності полягає у використанні 3-х тварин однієї статі на кожному етапі та заснований на біометричному оцінюванні з фіксованими дозами, які розподілені за часом прийому так, щоб було можливо оцінити добавку за ступенем небезпеки і систематизувати результати. Рівень початкової дози має з найбільшою вірогідністю зумовлювати часткову загибель тварин, яким задавали одну із чотирьох фіксованих доз (5, 50, 300 та 2000 мг/кг маси тіла).

Рис. 1. **Дослідження гострої токсичності кормової добавки з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом на лабораторних щурах.**

На підставі аналізу попередніх досліджень добавки було визначено початкову дозу, яка становила 2000 мг/кг маси тіла.

Дослід проводили на білих щурах-аналогах, самках 3-4-місячного віку з масою тіла 190-200 г (рис. 1). Перед оральним введенням тварин не годували протягом 12 годин. Трьом щурам кормову добавку з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом вводили внутрішньо шлунково за допомогою металевого зонда у вигляді суспензії з 1 % крохмалем, у дозі 2000 мг/кг маси тіла, введення проводили дворазово по 5 мл. Токсичну дію кормової добавки на організм щурів вивчали методом спостереження за поведінкою піддослідних тварин, фіксуючи їх клінічний стан і загибель.

Після перорального введення суспензії, допуск до корму надавали через 3-4 години, за постійного забезпечення тварин водою. Годівлю щурів проводили повнораціонним гранульованим комбікормом згідно з установленими нормами годівлі. Усі дослідження проводили дотримуючись положення Європейської конвенції із захисту тварин, які використовуються в експериментах та інших наукових цілях (Страсбург, 1986).

Основні результати дослідження. У результаті проведених досліджень шкірно-подразнювальної дії кормової добавки з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом за дворазового нанесення на шкіру кролів приготованої з неї суспензії, візуальних змін з боку шкірного покриву не виявлено (рис. 2).

А **Б**

Рис. 2. **Дослідження шкірно-подразнювальної дії суспензії кормової добавки з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої йодом на кролях:**
А – 1 доба, нанесення на шкіру суспензії; Б – 6 доба, відсутня реакція.

Встановлено, що кормова добавка з прісноводної водорості *Lemna minor* збагачена Йодом не спричинює подразнювальної та дермонекротичної дії за нанесення на шкіру.

Під час визначення подразнювальної дії кормової добавки з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом на слизову оболонку ока згідно з методикою ДСТУ 3570-97, а також додатковим методом, оцінювання проводили за наявністю вираженої гіперемії, набряку та виділень (рис. 3).

А Б В

Рис. 3. **Дослідження подразнювальної дії суспензії кормової добавки з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом на слизовій оболонці ока у кроля:**
А – контроль; Б – 1 доба, нанесення суспензії кон'юнктивальний мішок; В – 14 доба, відсутня реакція;

У результаті проведених досліджень було встановлено, що через 24-48 годин нанесена суспензія не зумовлює подразнювальної дії на слизову оболонку ока кроля. Отримані результати дослідження після проведеної маніпуляції через 1, 24, 48, 72 години та на 14 добу наведені в таблці 2.

Таблиця 2 – **Оцінка подразнювальної дії кормової добавки з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом на слизову оболонку ока кролів** (n=5)

Подразнювальна дія	Доба дослідження					
	1	2	3	4	5	14
Оцінка дії на слизовій ока у 1-го кроля						
Виділення	0	0	0	0	0	0
Гіперемія	0	0	0	0	0	0
Набряк	0	0	0	0	0	0
Оцінка дії на слизовій ока у 2-го кроля						
Виділення	0	0	0	0	0	0
Гіперемія	0	0	0	0	0	0
Набряк	0	0	0	0	0	0
Оцінка дії на слизовій ока у 3-го кроля						
Виділення	0	0	0	0	0	0
Гіперемія	0	0	0	0	0	0
Набряк	0	0	0	0	0	0
Оцінка дії на слизовій ока у 4-го кроля						
Виділення	0	0	0	0	0	0
Гіперемія	0	0	0	0	0	0
Набряк	0	0	0	0	0	0
Оцінка дії на слизовій ока у 5-го кроля						
Виділення	0	0	0	0	0	0
Гіперемія	0	0	0	0	0	0
Набряк	0	0	0	0	0	0

За внесення 0,1 мл суспензії кормової добавки в кон'юнктивальний мішок ока кроля клінічні ознаки запалення були відсутні. Отже, досліджувана добавка не спричинює подразнювальної дії за нанесення на слизову оболонку ока у кроля.

За результатами дослідження гострої токсичності встановлено, що доза 2000 мг/кг маси тіла не зумовлює загибелі дослідних тварин і будь-яких відхилень з боку поведінкових реакцій і загального стану щурів не виявлено. Відсутність смертності лабораторних тварин, спричиненої введенням кормової добавки, свідчить про те, що немає необхідності в подальшому дослідженні.

Середньосмертельна доза кормової добавки з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом за умовами проведення альтернативного методу АТС становить 2000 мг/кг < $LD_{50} \leq$ 2500 мг/кг та належить до п'ятого класу токсичності, згідно з класифікацією УГС (GHS) [8].

Висновки. 1. Отже, за дворазового нанесення на шкіру кролів суспензії кормової добавки, візуальних змін з боку шкірного покриву не виявлено. Встановлено, що кормова добавка з прісноводної водорості *Lemna minor* збагачена Йодом не спричинюєподразнювальної та дермонекротичної дії за нанесення на шкіру.

2. Досліджувана добавка не зумовлює подразнювальної дії за нанесення на слизову оболонку ока у кроля.

3. У результаті проведених досліджень кормова добавка з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом належить до 5 класу токсичності згідно з УГС (Узгоджена на глобальному рівні система класифікації та маркування).

Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення хронічної токсичності кормової добавки з прісноводної водорості *Lemna minor* збагаченої Йодом на лабораторних тваринах і курчатах-бройлерах.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / Коцюмбас І.Я., Малик О.Г., Патерега І.П. та ін.; за ред. д-ра вет. наук, проф. І.Я. Коцюмбаса.– Львів: Тріада плюс, 2006. – 365 с.
2. Оцінка безпечності кормових добавок, загальні підходи: методичні рекомендації / І. Я. Коцюмбас, Г. П. Ривак, С. О. Шаповалов – Львів, 2011. – 21 с.
3. Diener W., Sichha, L., Mischke, U. (1994). The Biometric Evaluation of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). / Diener W., Sichha L., Mischke U. // Arch. Toxicol. 68. – pp. 559–610.
4. Diene,r W. (1995). The Biometric Evaluation of the OECD Modified Version of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). / Mischke U., Kayser D. // Arch. Toxicol. – 69. – pp. 729–734.
5. Diener, W. (1999) Acute Toxicity Class Methods: Alternatives to LD/LC50 Tests. ALTEX 16. / Schlede E // – pp. 129–134.
6. Schlede, E. (1992). A National Validation Study of the Acute-Toxic-Class Method – An Alternative to the LD50 Test. / Mischke U., Roll R // Arch. Toxicol. 66. – pp. 455–470.
7. ГОСТ 12.1.007-76. ССБТ. Вредные вещества. Класификация и общие требования безопасности. – Введ. 01.01.77. – Проверен 01.10.81; Изменен №1; Переиздан 01.12.81. – М.: Изд-во стандартов, 1982. – С. 6.
8. Harmonised Integrated Hazard Classification for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals in November 1998, Part 2. – 11 p.

REFERENCES

1. Kotsyumbas, I. J., Malik, A. G., Patereha, I. P. etc. Ed. Kotsyumbas, I. (2006). Preclinical studies of veterinary drugs [Preclinical studies of veterinary medicinal products]. Lviv, Triad Plus, 365 p.
2. Kotsyumbas, I. Y., Ryvak, G. P., Shapovalov, S., Brezvyn, A. and others. (2011). Evaluation of the safety of feed additives, general approaches: guidelines [Assessment of safety of feed additives, general approaches: methodical recommendations]. Lviv, 21 p.
3. Diener W., Sichha L., Mischke U. (1994). The Biometric Evaluation of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). Arch. Toxicol, Vol. 68, pp. 559-610.
4. Diener W., Mischke U., Kayser D. (1995). The Biometric Evaluation of the OECD Modified Version of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). Arch. Toxicol, Vol. 69, pp. 729-734.
5. Diener W., Schlede E. (1999) Acute Toxicity Class Methods: Alternatives to LD/LC50 Tests, ALTEX 16, pp. 129-134.
6. Schlede E., Mischke U., Roll R. (1992). A National Validation Study of the Acute-Toxic-Class Method – An Alternative to the LD50 Test, Arch. Toxicol, Vol. 66, pp. 455-470.
7. GOST 12.1.007-76. Harmful substances. Classification and general safety requirements [State Standard 12.1.007-76. Harmful substances. Classification and general safety requirements]. Moscow, Publishing Standards, 1982, 6 p.
8. Harmonised Integrated Hazard Classification for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals in November 1998, Part 2, 11 p.

Изучение токсикологических параметров и определение класса токсичности кормовой добавки из пресноводной водоросли Lemna minor обогащенной йодом

Ривак Р. О., Мерзлов С. В.

Обоснована необходимость проведения токсикологических исследований и установления класса токсичности кормовой добавки с пресноводной водоросли Lemna minor обогащенной йодом, описаны новые подходы и применены методы, соответствующие европейским требованиям к проведению таких исследований.

В результате проведенных исследований установлено, что добавка не вызывает раздражающего и дермонекротичного действия при нанесении на кожу кроликов, а также не вызывает раздражающего действия при нанесении на слизистую оболочку глаза у кролика. Установлено, что кормовая добавка с пресноводной водоросли Lemna minor обогащенные йодом относится к 5 классу токсичности согласно УГС (Согласованная на глобальном уровне система классификации и маркировки).

Ключевые слова: кормовая добавка, Lemna Minor, раздражающее действие, дермонекротическое действие, слизистая оболочка, острая токсичность, токсическое действие, лабораторные животные.

The study of toxicological parameters and the determination of the toxicity class of the fodder additive from freshwater alga Lemna minium enriched with iodine

Rivak R., Merzlov S.

The article substantiates the necessity of conducting toxicological studies and establishment of the toxicity class of fodder additive from freshwater alga Lemna minor enriched with iodine, new approaches are described, and methods are described corresponding to the European requirements for conducting such research. As a result of the conducted studies it was established that the fodder additive does not cause irritating and dermonecrotic effect when applied to the skin of rabbits, and also does not cause irritating effects when applied to the mucous membrane of the eye of rabbit. It has been established that the fodder additive from freshwater Lemna minor enriched with iodine belongs to the 5th toxicity class according to EGS (Globally Harmonized System of Classification and Labeling).

Key words: fodder additive, Lemna minor, irritant effect, dermonecrotic effect, mucous membrane, acute toxicity, toxic effect, laboratory animals.

Надійшла 14.09.2017 р.