

УДК 615.32: 547.99

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ГУМИНОВОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ

Торжков Н.И., Туников Г.М., Майорова Ж.С.

*ФГБОУ ВПО «Рязанский государственный агротехнологический университет
имени П.А. Костычева», Рязань, e-mail: jeannemay@yandex.ru*

Изучена острая токсичность гуминовой кормовой добавки в опыте на белых мышах. Проведено исследование токсичности кормовой добавки при однократном пероральном введении в желудок мышей в разных дозировках. Установлено, что кормовая добавка не вызывает летальности при дозировках, превышающих рекомендованные нормы в 100 раз, и не проявляет токсичности в дозах до 5 мл/кг: при вскрытии и макроскопическом исследовании внутренних органов у мышей патологических изменений внутренних органов обнаружено не было: внутренние органы нормального размера, формы и топографического расположения, без признаков отека, раздражения и кровоизлияний. Кормовая добавка положительно влияет на состояние животных при применении в малых дозах, является малотоксичным веществом и относится к IV классу опасности.

Ключевые слова: гуминовая кормовая добавка, гумат калия, гуминовые вещества, острая токсичность, раздражающее действие

INVESTIGATION OF THE HUMIC FEED ADDITIVE ACUTE TOXICITY

TorzHKov N.I., Tunikov G.M., Mayorova Z.S.

*FSBEI HPE «Ryazan State Agrotechnological University
named after P.A. Kostychev», Ryazan, e-mail: jeannemay@yandex.ru*

They have studied the feed additive acute toxicity in the experiment with white mice. They have also investigated the feed additive toxicity in a case of single oral administration into mice stomachs in different doses. They have determined that the feed additive has not caused lethality when the dose exceeded the recommended norm in 100 times and has not shown toxicity when the dose up to 5 ml/kg. They have not found any pathologic changes of internal organs when postmortem examination and macroscopic investigation. The internal organs have been of normal size, shape and topographic position without any signs of puffiness, irritation and hemorrhage. The feed additive has positively influenced the animals' state when using small doses. It is a low-toxic substance related to class of hazard IV.

Keywords: humic feed additive, potassium humate, humic substances, acute toxicity, irritant action

В современных условиях интенсивного ведения животноводства животные находятся под постоянным воздействием стресс-факторов. В связи с этим особый интерес вызывает разработка новых кормовых добавок, позволяющих повысить иммунитет и устойчивость животных к неблагоприятным факторам внешней среды. По сути, кормовые добавки – это реальная возможность улучшить усвоение питательных веществ организмом и организовать полноценное кормление животных в жестких условиях их эксплуатации.

В нашей стране около 30% всех почв являются экологически неблагополучными. Как правило, ухудшение состояния почвы происходит за счет засоленности, поступления в нее тяжелых металлов и нефтепродуктов. Таким образом, кормовая база для сельскохозяйственных животных постоянно находится под угрозой экотоксикации [3]. Поэтому особого интереса заслуживают экологически чистые добавки природного происхождения.

Последнее время широко стали изучать кормовые препараты на основе гуминовых веществ. Гуминовые вещества входят в состав растительных тканей, торфа, различных углей, придонных органических остатков и др., выполняя ряд разнообразных функций [6]. Специфические свойства продуктов из гуминовых кислот позволяют применять их в промышленности, сельском хозяйстве, экологии и биомедицине [7].

В настоящее время отечественный рынок интенсивно пополняется гуминовыми препаратами, производимыми в России и за рубежом из бурого угля, торфа, сапропеля. Однако практически все гуминовые препараты не стандартизированы, так как содержание в различных партиях действующего вещества (ДВ) гуминовых кислот различается на 10–15%. Поэтому в литературе часто публикуются разноречивые данные об эффективности того или иного гумата [4].

При использовании инновационных биологических добавок в кормлении животных важным показателем является

санитарное благополучие, доброкачественность и нетоксичность получаемого продукта [2]. Гуминовые вещества, являясь биологически активными соединениями, при их обработке, специфической в каждом конкретном случае, могут быть источниками новых разнообразных биологически активных веществ [1]. Поэтому каждый отдельно взятый полученный гуминовый препарат требует тщательного изучения, в том числе и на предмет его токсичности по отношению к животному организму.

Материал и методы исследований

Целью данных исследований было определение острой токсичности гуминовой кормовой добавки «Питэр Пит», представляющей собой гумат калия, полученный из низинного торфа месторождения Рязанской области. Препарат отличается экологичностью и высокой концентрацией активных гуминовых кислот и фульвокислот (36,74 г/л), производится в виде гомогенной коллоидной суспензии темно-коричневого цвета, со специфическим запахом, влажностью около 80%.

Работа проведена на белых беспородных мышах со средней живой массой 22 г. В каждой группе было по 10 животных (5 самцов и 5 самок). Всего было сформировано 6 групп (3 опытные и 3 контрольные). Животные содержались в стандартных клетках при 12-часовом режиме освещения и свободном доступе к корму и воде (автопоилки) в соответствии с нормами, утвержденными МЗ РФ. Контрольные животные содержались в аналогичных условиях.

Исследование острой токсичности кормовой добавки проводилось в соответствии с рекомендуемой методикой [5]. Изучаемый препарат вводили однократно перорально при помощи зонда, натошак, после двенадцати часов голодной выдержки. Корм животным давали через 3 часа после введения.

Схема введения препарата (водный раствор):

- 1 опытная группа – 0,5 мл на 1 кг живой массы;
- 2 опытная группа – 5 мл на 1 кг живой массы;
- 3 опытная группа – 50 мл на 1 кг живой массы.

Каждой опытной группе соответствовала контрольная, где мышам вводили стерильную питьевую

воду в объеме, аналогичном дозе применяемого препарата для опытных животных.

После введения препарата животные находились под наблюдением в течение 2 недель. В первый день после введения наблюдение велось постоянно. В начале и конце эксперимента животных взвешивали.

По окончании опыта был проведен анализ морфологический и биохимический анализ крови мышей, произведено вскрытие с макроскопическим исследованием внутренних органов.

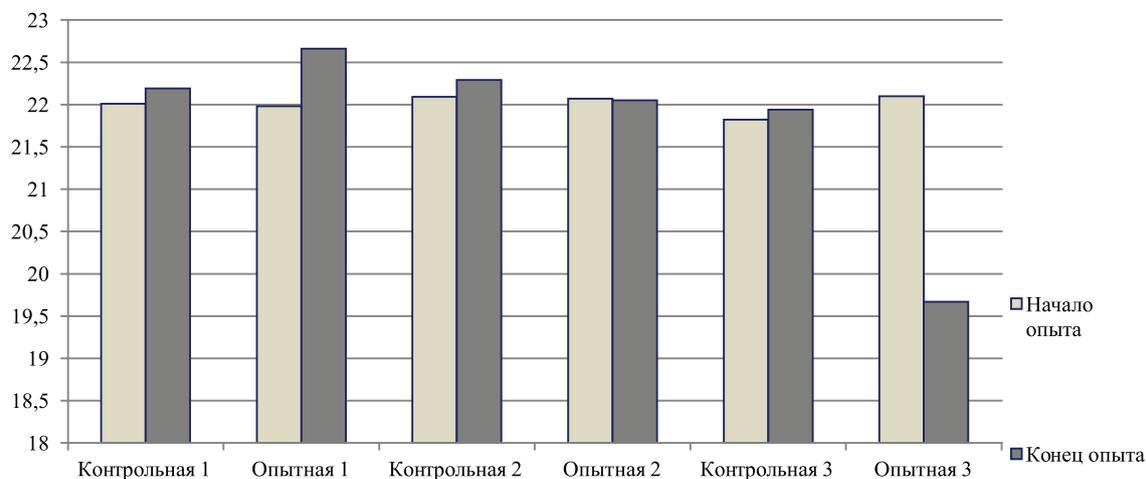
Определение раздражающего эффекта по кожной пробе проводилось на 10 кроликах-самцах при нанесении препарата на кожные покровы (метод испытания ГОСТ Р 52337-2005). Животные ранее не подвергались токсическому воздействию. Экстракт наносили двукратно, наблюдали за реакцией в течение 3 суток после повторного нанесения.

Результаты исследований и их обсуждение

При введении препарата в дозах, не превышающих 50 мл на 1 кг живой массы, летальности выявлено не было. Не было отмечено изменений общего клинического состояния, поведения, потребления корма и воды (за исключением 3 опытной группы, где потребление корма снизилось на 3,6%). Все изучаемые показатели не отличались от соответствующих параметров у животных контрольной группы и соответствовали нормам.

За период исследований живая масса мышей, получавших кормовую добавку в количестве 0,5 мл/кг, увеличилась на 3,1% ($P \leq 0,01$), во 2 опытной группе изменений живой массы практически не произошло. Мыши, получавшие препарат в количестве более 50 мл/кг, снизили живую массу на 11% ($P \leq 0,01$). В контрольных группах существенных изменений не произошло, но проявилась тенденция к увеличению живой массы.

Изменение живой массы представлено на рисунке.



Изменение живой массы мышей в период исследований

Таблица 1

Морфологический состав крови мышей

Группа	Показатель		
	эритроциты, 10 ¹² /л	лейкоциты, 10 ⁹ /л	гемоглобин, г/л
В начале опыта			
1 контрольная	7,1 ± 0,07	10,3 ± 0,13	95,3 ± 4,61
1 опытная	7,3 ± 0,09	10,5 ± 0,11	96,1 ± 5,31
2 контрольная	7,4 ± 0,06	10,7 ± 0,15	96,7 ± 5,22
2 опытная	7,5 ± 0,08	10,6 ± 0,10	94,5 ± 4,93
3 контрольная	7,4 ± 0,08	10,4 ± 0,12	95,8 ± 6,21
3 опытная	7,2 ± 0,10	10,3 ± 0,14	94,6 ± 6,32
В конце опыта			
1 контрольная	7,2 ± 0,06	10,5 ± 0,12	95,7 ± 4,80
1 опытная	7,6 ± 0,09***	11,3 ± 0,13***	102,1 ± 6,91
2 контрольная	7,2 ± 0,08	10,6 ± 0,14	96,1 ± 5,70
2 опытная	7,8 ± 0,12***	11,2 ± 0,11***	101,4 ± 7,70
3 контрольная	7,4 ± 0,07	10,3 ± 0,09	95,5 ± 6,02
3 опытная	7,5 ± 0,09	10,5 ± 0,11	96,7 ± 7,23

Примечание. *** P ≤ 0,01.

Оценка морфологических показателей крови подопытных мышей показала, что содержание форменных элементов: эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина – было выше показателей контрольных групп, но в пределах физиологической нормы (табл. 1).

Изменения по уровню гемоглобина были не достоверны, то есть можно говорить только о тенденции к увеличению этого показателя в опытных группах.

Увеличение количества эритроцитов и лейкоцитов в крови мышей 1 и 2 опытных групп было существенным, так, по

уровню эритроцитов разница по сравнению с контролем составила соответственно 5,6 и 8,3%, по уровню лейкоцитов – 7,6 и 5,7%.

Результаты исследований общего белка, его фракций и глюкозы в крови мышей представлены в табл. 2.

Как видно из данных таблицы, показатели белкового и углеводного обмена не выходили за пределы физиологической нормы и наблюдалась тенденция повышения общего количества белка, альбуминов и глюкозы в крови мышей опытных групп.

Таблица 2

Биохимический состав крови мышей

Группа	Показатель		
	общий белок, г/л	альбумины, г/л	глюкоза, ммоль/л
В начале опыта			
1 контрольная	69,3 ± 0,91	31,8 ± 0,91	4,93 ± 0,72
1 опытная	69,7 ± 1,22	33,1 ± 0,78	5,12 ± 0,63
2 контрольная	69,4 ± 0,70	32,3 ± 0,90	5,03 ± 0,54
2 опытная	69,2 ± 1,10	32,8 ± 1,04	4,96 ± 0,61
3 контрольная	69,0 ± 1,30	32,2 ± 0,55	5,11 ± 0,69
3 опытная	70,1 ± 1,11	33,2 ± 1,03	4,93 ± 0,42
В конце опыта			
1 контрольная	69,4 ± 1,02	31,5 ± 0,92	5,01 ± 0,69
1 опытная	71,6 ± 1,41	36,2 ± 1,30***	5,35 ± 0,41
2 контрольная	69,2 ± 0,80	32,6 ± 1,11	5,10 ± 0,70
2 опытная	70,8 ± 1,34	33,9 ± 0,82	5,18 ± 0,72
3 контрольная	69,3 ± 1,29	32,2 ± 0,68	5,16 ± 0,71
3 опытная	70,4 ± 1,01	33,4 ± 1,10	4,97 ± 0,53

Примечание. *** P ≤ 0,01.

Таблица 3

Масса внутренних органов мышей

Группа	Доза препарата, мл/кг	Масса, мг		
		печень	почки	селезенка
1 контрольная	–	1317 ± 102	149 ± 31	170 ± 34
1 опытная	0,5	1322 ± 115	152 ± 35	171 ± 30
2 контрольная	–	1328 ± 118	153 ± 33	173 ± 29
2 опытная	5,0	1392 ± 114	159 ± 28	177 ± 32
3 контрольная	–	1320 ± 104	151 ± 29	171 ± 32
3 опытная	50,0	1570 ± 98*	167 ± 31	183 ± 27

Примечание. * $P \leq 0,1$.

При вскрытии и макроскопическом исследовании внутренних органов у мышей 1 и 2 опытных групп патологических изменений внутренних органов обнаружено не было. Кожа и шерсть без видимых изменений, внутренние органы нормального размера, формы и топографического расположения, признаки отечности, раздражения и кровоизлияний отсутствовали. В 3 опытной группе, при введении препарата в дозе, превышающей рекомендуемую в 100 раз (50 мл/кг), у всех животных было обнаружено увеличение печени, почек и селезенки, у 3 мышей – гиперемия желудка и кишечника (табл. 3).

При местном нажном применении исследуемый препарат не оказал раздражающего действия. Воспалительная реакция отсутствовала, не было выявлено следов покраснений, шелушения, болезненности, уплотнений, отечности и других проявлений. Животные чувствовали себя нормально, не проявляя признаков беспокойства, не отмечено изменений в поведении, температуры тела и других показателей, характеризующих общее клиническое состояние животных.

Вывод

Таким образом, изучаемая гуминовая кормовая добавка при однократном пероральном введении в дозах до 50 мл/кг не вызывает летальности. В большем количестве ввести препарат внутрь не представляется возможным, что является основанием для установления IV класса опасности – малоопасные вещества.

Препарат положительно влияет на состояние организма животных при применении в малых дозах и может быть рекомендован к применению для сельскохозяйственных животных.

Список литературы

1. Бузлама В.С. Механизм действия препаратов гуминовых веществ / В.С. Бузлама, В.Н. Долгополов, А.В. Сафонов // Итоги и перспективы применения гуминовых препаратов в продуктивном животноводстве, коневодстве и птицеводстве: сб. докладов всероссийской конференции 21 декабря 2006 г. – М., 2006. – С. 24–35.
2. Кулаков В.В. Оценка санитарно-биологических и физико-химических показателей продуктов убоя свиней при использовании в кормлении ультрадисперсного железа / В.В. Кулаков, Э.О. Сайтханов // Вестник ФГБОУ ВПО РГАУ-ТУ. – 2014. – № 3 (23). – С. 23–26.
3. Нефедова С.А. Фиторемедиационная реакция растений при загрязнении почвы нефтепродуктами и отходами кожевенного производства / С.А. Нефедова и др. // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета имени П.А. Костычева. – 2013. – № 2 (18). – С. 39–41.
4. Никулин И.А. Параметры токсичности нового гуминового препарата – гумат калия (энерген) / И.А. Никулин и др. // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2012. – Т. 49. – № 3. – С. 209–212.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева. – М.: ОАО Изд-во «Медцина», 2005. – 832 с.
6. Филов В.А., Беркович А.М. Гуминовые вещества: краткий очерк химизма и возможностей медикобиологического использования / В.А. Филов, А.М. Беркович // Итоги и перспективы применения гуминовых препаратов в продуктивном животноводстве, коневодстве и птицеводстве: сб. докладов всероссийской конференции 21 декабря 2006 г. – М., 2006. – С. 6–10.
7. Eladia, M. Peña-Méndez, Josef Havel, Jiří Patočka. Humic substances – compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. – Journal of applied biomedicine. – 2005. – № 3. – P. 13–24.

References

1. Buzlama V.S. Mekhanizm deystviya preparatov guminovykh veshchestv / V.S. Buzlama, V.N. Dolgoplov, A.V. Safonov // Itogi i perspektivy primeneniya guminovykh preparatov v produktivnom zhivotnovodstve, konevodstve i pticevodstve: sb. Dokladov vserossiyskoy konferencii 21 dekabrya 2006 g. M., 2006. pp. 24–35.

2. Kulakov V.V. Ocenka sanitarno-biologicheskikh i fiziko-khimicheskikh pokazateley produktov uboya svineypri ispol'zovanii v kormlenii ul'tradispersnogo zheleza / V.V. Kulakov, Eh.O. Saytkhanov // Vestnik FGBOU VPO RGATU. 2014. no. 3 (23). pp. 23–26.

3. Nefedova S.A. Fitoremediacionnaya reakciya resteniy pri zagryaznenii pochvy nefteproduktami iotkhodami kozhevnogo proizvodstva / S.A. Nefedova i dr. // Vestnik Ryazanskogo gosudarstvennogo agrotekhnologicheskogo universiteta imeni P.A. Kostycheva. 2013. no. 2 (18). pp. 39–41.

4. Nikulin I.A. Parametry toksichnosti novogo gumino-vogo preparata – gumat kaliya (ehnergen) / I.A. Nikulin i dr. // Izvestiya Gorskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2012. T. 49. no. 3. pp. 209–212.

5. Rukovodstvo po ehspierimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novykh farmakologicheskikh veshchestv / Pod red. R.U. Khabrieva. M.: OAO «Izdatel'stvo «Medicina», 2005. 832 p.

6. Filov V.A., Berkovich, A.M. Guminovye veshchestva: kratkiy ocherk khimizma i vozmozhnostey medikobiologicheskogo ispol'zovaniya / V.A. Filov, A.M. Berkovich // Itogi i perspektivy primeneniya guminovykh preparatov v produktivnom zhivotnovodstve, konevodstve i pticevodstve: sb. Dokladov vserossiyskoy konferencii 21 dekabrya 2006 g. M., 2006. pp. 6–10.

7. Eladia M. Peña-Méndez, Josef Havel, Jiří Patočka. Humic substances – compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. – Journal of applied biomedicine, 2005. 3. pp. 13–24.

Рецензенты:

Коровушкин А.А., д.б.н., профессор, Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева, г. Рязань;

Морозова Н.И., д.с.-х.н., профессор, Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева, г. Рязань.

Работа поступила в редакцию 10.04.2015.