



Использование водных и почвенных беспозвоночных животных при исследованиях отходов, образованных при очистке химзагрязненных сточных вод

Юркевич Елена Станиславовна – ведущий научный сотрудник
лаборатории профилактической и экологической токсикологии,
канд. мед. наук

Соавторы: Камлюк С.Н., Гомолко Т.Н., Иода В.И., Кутлиахметов И.Ф.

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»
Министерства здравоохранения Республики Беларусь
220012, г. Минск, ул. Академическая, 8
тел. (+375 17) 3477370 e-mail: toxlab@mail.ru



Определение степени и класса опасности отходов производства

- ▶ Согласно законодательству Республики Беларусь, обращение с отходами производства (переработка, утилизация, захоронение) предполагает проведение испытаний отходов по различным опасным свойствам с целью определения степени и класса опасности.
- ▶ Исследованию по оценке опасного свойства «токсичность» подлежат практически все отходы производства, при этом многие из них подлежат также оценке по опасному свойству «экоотоксичность»
- ▶ Согласно действующим ТНПА, *были проведены испытания отходов:*

осадки очистки химзагрязненных сточных вод на очистных сооружениях (код 8430700), образованные отечественным предприятием по опасным свойствам «токсичность» и «экоотоксичность»

*По опасному свойству «экоотоксичность» исследования проводили с применением тест-моделей, представленных водными организмами (кладками большого прудовика **L. stagnalis**) и дождевыми червями **Eisenia foetida***



Результаты токсикологических исследований на белых крысах (испытания отходов по опасному свойству «токсичность»)

- ▶ В результате эксперимента установлено, что внутрижелудочное введение нативного гомогенизированного образца отходов белым крысам не вызвало гибели животных и токсических эффектов: отсутствовали признаки интоксикации, не регистрировались изменения в поведении, состоянии, внешнем виде, аппетите, степени проявления реакций на внешние раздражители в течение всего периода наблюдения.
- ▶ Выводы. Согласно схеме оценки токсичности отходов в остром эксперименте на теплокровных животных методом «фиксированной дозы» отходы относятся к **4 классу опасности - малоопасным отходам.**



Оценка токсичности с использованием тест-модели *Lymnaea stagnalis*

Методы исследований: Инструкция № 044-1215 от «07» апреля 2016 г

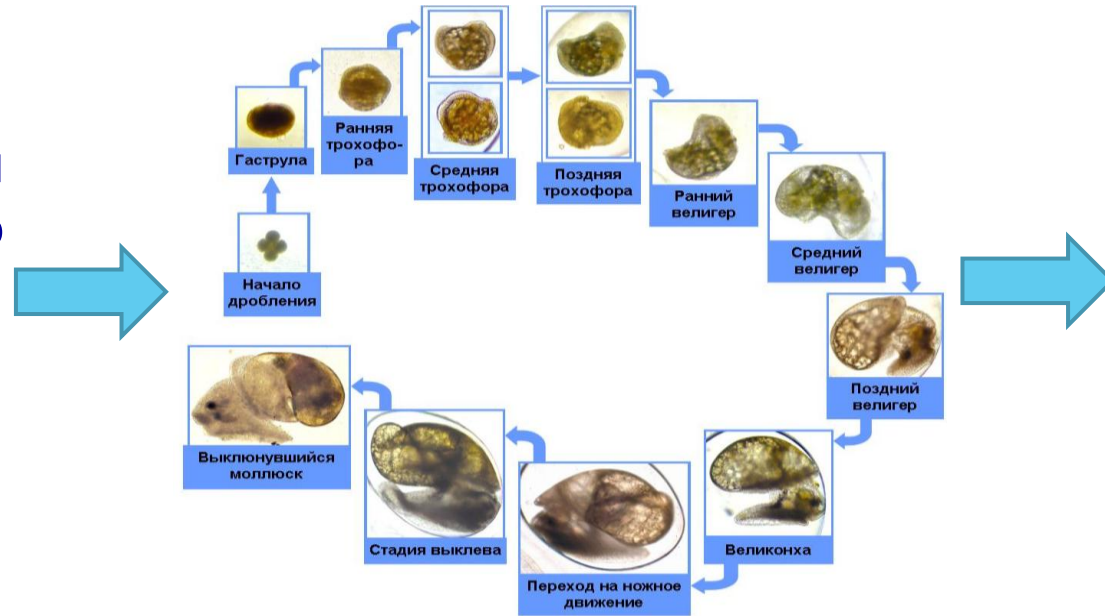
Схема эксперимента:

- 12 синхронизированных кладок прудовика большого *Lymnaea stagnalis* в стадии гастролы
- Чашки Петри (концентрации отходов: 2,5 мг/мл, 5,0 мг/мл, 10,0 мг/мл, 20,0 мг/мл)
- кладку делят на 5 приблизительно равных частей:
- одна контрольная и 4 опытные группы
- Подсчет изначального количество зародышевых капсул
- Инкубация до полного выклева
- Подсчет в каждой чашке выклюнувшихся ювенильных особей моллюска



Оценка эмбриотоксических эффектов в тест-модели *Lymnaea stagnalis*

Основные этапы
эмбрионального
развития
большого
прудовика



В исследованиях
использовали кладки с
эмбрионами на стадиях
гастрюлы/трохофоры

подсчет выклюнувшихся
особей
для каждой заданной
концентрации
на каждой из трех
повторностей
эксперимента

Определение
успешного выклева
(расчет доли
выклюнувшихся
особей относительно
изначального
количества капсул)

Определение угнетения
выклева
(%) по формуле: угнетение
выклева (%) = $(K-O)/K * 100\%$,
где K - % успешного выклева в
контроле, O - % успешного
выклева в опыте



Параметры эмбриотоксичности

Опасность отходов в отношении эмбриотоксичности на кладках *Lymnaea stagnalis* оценивается по показателям:

- ❑ средне-эффективная концентрация (EC_{50});
- ❑ пороговая концентрация (EC_{15});
- ❑ средне-эффективная концентрация (EC_{50}) / пороговая концентрация (EC_{15}) – (характеризует зону острого действия)

Ранжирование отходов по классам опасности проводится по лимитирующему показателю – наиболее «строгому» из всех проанализированных параметров эмбриотоксичности

Критерии отнесения отходов к классу опасности по результатам исследований в тест-модели *Lymnaea stagnalis*

Показатель	Классы опасности отходов			
	1	2	3	4
EC_{50} , мг/мл	$< 0,1$	$0,1 - 1,0$	$1,1 - 20$	> 20
пороговая концентрация (EC_{15}), мг/мл	$< 10^{-4}$	$10^{-4} - < 10^{-3}$	$10^{-3} - 0,5$	$> 0,5$
EC_{50} / EC_{15}	$> 10^4$	$10^4 - > 10^2$	$10^2 - 10$	-



Результаты исследований токсичности отходов на *Lymnaea stagnalis*

Установлен эффект угнетения выклева при воздействии исследованных отходов

Концентрация образца отходов, мг/мл	Успешный выклев, %	CV, % коэффициент вариации	Угнетение выклева, %
Контроль	95,48	3,3	-
2,5	90,15	3,3	5,58
5,0	39,43	5,45	58,70
10,0	17,48	7,56	81,69
20,0	1,88	9,12	98,03

На основании полученных результатов рассчитаны значения показателей для ранжирования отходов по классам опасности (параметры эмбриотоксичности отходов на кладках *Lymnaea stagnalis*)

Показатель	Результат	Класс опасности
ЕС 50, мг/мл	8,37±0,04	3 класс
пороговая концентрация (ЕС 15), мг/мл	3,29	4 класс

Выводы: отмечено эмбриотоксическое действие отходов на кладках *Lymnaea stagnalis* и установлено, что отходы относятся к **3-му классу опасности опасных отходов (умеренно опасные)**.



Параметры оценки токсичности в тест-модели *Eisenia foetida*

- ▶ Ранжирование отходов по классам опасности проводится по лимитирующему показателю – наиболее «строгому» из всех проанализированных параметров эмбриотоксичности
- ▶ Таблица – критерии отнесения отходов к классу опасности по результатам исследований в тест-модели *Eisenia foetida*

Показатель	Степень и классы опасности отходов				
	опасные				неопасные
	1-й класс	2-й класс	3-й класс	4-й класс	
Токсичность на <i>Eisenia foetida</i> , LC_{50}	$\leq 0,1$	$> 0,1 - 1,0$	$1,1 - 50,0$	$\geq 50,0$	отсутствие



Результаты исследований токсичности отходов на *Eisenia foetida*

При воздействии отходов в концентрации **75,0 г/кг** были выявлены **изменения поведенческих реакций животных** (снижения двигательной активности, снижения скорости зарывания в грунт).

Выявлен дозозависимый эффект гибели животных (дождевых червей) при воздействии отходов в заданных концентрациях.

Концентрация образца отходов, г/кг	гибель животных – количество погибших из 7			
	повторность 1	повторность 2	повторность 3	среднее значение из 3-х повторностей
30,00	0	1	0	0,33
75,00	2	2	3	2,33
125,00	5	5	6	5,33
200,00	6	6	7	6,33
контроль	0	0	1	0,33

В результате 7-суточной экспозиции образца отходов № 1 в тест-модели *Eisenia foetida* установлена величина среднелетальной концентрации **LC50 = 89,93 (63,48 - 127,39) г/кг**.

Выводы: исследованный образец отходов согласно результатам оценки токсичности в тест-модели *Eisenia foetida* относятся к **малоопасным отходам (4 класс опасности)**.