

## ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ НА ТЕСТ-ОБЪЕКТАХ ДАФНИЯХ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ ГУМАТА КАЛИЯ

© 2010 С.А. Симакова<sup>1</sup>, П.П. Пурыгин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Самарский государственный университет путей сообщения

<sup>2</sup>Самарский государственный университет

Поступила в редакцию 11.05.2010

В данной работе рассмотрено изучение токсичности водного и спиртового экстрактов кормовой добавки на основе гумата калия по стандартной методике Строганова Н.С. на тест-объектах дафниях.

Ключевые слова: *гумат калия, кормовые добавки, токсичность, дафнии*

Угольные месторождения являются практически неограниченным источником гуминовых кислот – уникального продукта, который играет ключевую роль в процессе формирования и функционирования почвы и может быть использован для решения многих сельскохозяйственных и экологических проблем [1]. В настоящее время вырос интерес к поиску препаратов на основе полифенольных соединений класса гуминовых кислот и гуматов. Гуматы – это природные органические вещества, которые образуются в почве в виде водорастворимых солей гуминовых кислот. Гуминовые препараты (полученные промышленным способом, препаративные формы, содержащие определенное количество гумата с определенной биологической активностью) низкобалластные и безбалластные препараты нового поколения, содержащие в качестве основного действующего вещества природный гумат с высокой биологической активностью, а также другие биологически активные вещества и элементы питания в хелатной форме [2, 3]. Гуматы широко применяются в животноводстве, ветеринарии. Биологическая активность гуминовых веществ связана с влиянием их на окислительно-восстановительные процессы, и этот эффект объясняется наличием в составе гуминовых кислот химических группировок (полифенолы, оксихиноны, хиноны), которые выполняют роль переносчиков кислорода, что стабилизирует в живом организме внутриклеточное дыхание. Преимуществом гуминовых препаратов, в отличие от классических фитоадаптогенов, (женьшеня, элеутерококка, родиолы розовой), является возможность их производства промышленным путем из широко доступного сырья [2, 3].

Нами разработана кормовая добавка, состоящая из гумата калия и биомассы синезеленой микроводоросли спирулины. Уникальное сочетание биологически активных соединений обуславливают позитивное влияние биомассы спирулины на организм, а гумат калия, в свою очередь, имеет богатый набор ценных минеральных компонентов. Суммарное сочетание этих природных объектов взаимно обогащает и усиливает позитивное действие на организм. Важным условием позитивного влияния кормовой добавки на организм животного является отсутствие токсичности препарата.

**Цель работы:** изучение токсичности кормовой добавки на основе гумата калия и биомассы спирулины.

Эксперимент по изучению токсичности кормовой добавки на основе гумата калия осуществляли по стандартной методике Н.С. Строганова с использованием *Daphnia magna* Straus [4]. Препарат изучали в виде водного и спиртового экстрактов. Среду для экспериментов готовили на основе отстоянной водопроводной воды, в которую добавляли до необходимых концентраций исследуемое вещество и корм – 1% суспензию пекарских дрожжей. В сосуд объемом 0,75 л сажали по 15 рачков в возрасте до 24 часов. В качестве контроля использовали отстоянную водопроводную воду. В экспериментах с экстрактом этанолом был второй контроль в чистом этаноле, использовавшимся для экстракции. Эксперименты проводились в термостате при температуре 21-22<sup>0</sup>С и естественном освещении. Дафний кормили через 1 сутки [5]. Длительность экспериментов составляла 14 суток каждый. Для выявления отдаленных последствий действия экстракта эксперимент проводили на 3-х поколениях рачков. Все эксперименты проводились в 3-х повторностях.

В ходе экспериментов учитывали следующие показатели: количество погибших и оставшихся в живых рачков, время появления

Симакова Светлана Анатольевна, аспирантка. E-mail: [elliya@mail.ru](mailto:elliya@mail.ru)

Пурыгин Петр Петрович, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой органической, биоорганической и медицинской химии. E-mail: [casiopeya13@mail.ru](mailto:casiopeya13@mail.ru)

яиц в выводковых камерах, время выхода молоди из выводковых камер, ее количество и плодовитость. Молодь удаляли. Величины полулетальных концентраций рассчитывали по методу Кербера [6]. Достоверность различий оценивали по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни [6].

Водный и спиртовой экстракты кормовой добавки на основе гумата калия и биомассы спирулины фильтровали, чтобы удалить мелкодисперсную взвесь и хранили в холодильнике для предотвращения гнилостных процессов. Приготовленные экстракты вносили пипеткой в сосуды с дафниями до нужных концентраций. Экстракты изучали в следующих концентрациях: 10,00; 5,00; 4,00; 3,00; 2,00; 1,00; 0,50; 0,10 и 0,01%. Рачков пересаживали в свежеприготовленную среду в экспериментах с водным экстрактом раз в двое суток, с экстрактом в этаноле – ежедневно.

**Эксперименты с водным экстрактом кормовой добавки на основе гумата калия и биомассы спирулины.** Во всех экспериментах с водным экстрактом гибели рачков не наблюдалось (табл. 1). Количество молоди и величины плодовитости дафний были в концентрациях 1,00% и выше больше, чем в контроле, но недостоверно. Это, связано, вероятно, с размножением питающихся растворенными органическими веществами бактерий, которые служили дополнительной пищей дафниям. Эксперимент на дафниях не выявил негативного влияния исследуемых экстрактов кормовой добавки на выживаемость и размножение подопытных дафний. Следовательно, в композиции гумата калия и

биомассы спирулины не содержится токсичных для дафний веществ, растворимых в воде.

**Таблица 1.** Количество молоди у дафний в растворах водного экстракта

Концентрация экстракта	Продолжительность эксперимента, сутки			
	8	10	12	14
экстракт 10%	39	59	97	169
экстракт 5%	34	66	88	178
экстракт 4%	41	39	84	129
экстракт 3%	30	45	95	138
экстракт 2%	27	57	85	141
экстракт 1%	26	63	104	167
экстракт 0,5%	30	34	93	174
экстракт 0,25%	28	50	75	162
контроль	29	58	76	149

**Эксперименты со спиртовым экстрактом кормовой добавки на основе гумата калия и биомассы спирулины.** Изучаемые растворы этилового экстракта кормовой добавки оказались токсичны для дафний. В концентрациях 10,00-4,00% происходила полная гибель дафний (на первые, вторые, десятые и четырнадцатые сутки). В концентрации экстракта до 1,00% все оставались живыми, а в концентрациях от 2,0% до 4% до конца эксперимента в живых осталось только 25% и 17% рачков соответственно (табл. 2). Величины полулетальной концентрации экстракта, рассчитанные по методу Миллера-Тейтнера  $0,15 \pm 0,5$ , рассчитанные по методу Кербера  $0,19 \pm 0,4$ .

**Таблица 2.** Выживаемость дафний (экз) в растворах спиртового экстракта

Концентрация экстракта	Продолжительность эксперимента, сутки									
	1	2	3	4	5	6	8	10	12	14
экстракт 10%	0									
экстракт 5%	2	0								
экстракт 4%	7	0								
экстракт 3%	45	45	51	42	38	35	33	27	21	17
экстракт 2%	45	45	45	45	54	41	29	27	27	36
экстракт 1%	45	45	45	45	45	56	62	69	73	77
экстракт 0,5%	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45
экстракт 0,25%	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45
контроль	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45

В растворах этилового экстракта кормовой добавки с концентрациями 0,50-1,00% дафнии не значительно размножались. Закладка яиц в выводковые камеры и выход молоди во всех трех поколениях в исследуемых растворах концентрациями 0,25-0,10% происходила одновременно с контролем, а при концентрации 0,50% наблюдалась задержка на 2 суток. Количество потомства и плодовитость оказались достоверно

меньше чем в контроле в растворе экстракта с концентрацией 0,25% (табл. 3, 4). В концентрации 0,10% количество потомства и плодовитость оказались меньше, чем в контроле, но на границе достоверности (по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни  $U_{\text{опыт}}=1$ ;  $U_{\text{станд}}=1$  при  $P=0,05$ ). В концентрации 0,05% количество потомства и плодовитость не отличались от контроля (по

критерию Вилкоксона-Манна-Уитни  $U_{\text{опытн}}=6$ ;  $U_{\text{станд}}=1$  при  $P=0,05$ ).

**Таблица 3.** Количество молоди (экз) у дафний в растворах спиртового экстракта

Концентрация экстракта	Продолжительность эксперимента, сутки			
экстракт 10%				
экстракт 5%				
экстракт 4%				
экстракт 3%				
экстракт 2%				
экстракт 1%	13	9	5	2
экстракт 0,5%	17	15	11	7
экстракт 0,25%	15	13	12	31
контроль	15	17	19	43

**Таблица 4.** Плодовитость (молоди на самку) у дафний в растворах спиртового экстракта

Концентрация экстракта	Продолжительность эксперимента, сутки			
экстракт 10%				
экстракт 5%				
экстракт 4%				
экстракт 3%				
экстракт 2%				
экстракт 1%		0,08	0,06	0,04
экстракт 0,5%	0,13	0,11	0,10	0,08
экстракт 0,25%	0,15	0,27	0,22	0,34
контроль	0,34	0,41	0,45	0,97

По итогам эксперимента с этиловыми экстрактами кормовой добавки на основе гумата

калия и биомассы спирулины недействующая на дафний концентрация раствора этилового экстракта добавки составила 0,5%. Таким образом, токсичность исследованных этиловых экстрактов кормовой добавки ненамного превосходит токсичность растворителя. Следовательно, в изучаемой композиции содержится не большое количество соединений, растворимых в этиловом спирте, токсичных для дафний.

**Выводы:** водный экстракт кормовой добавки на основе гумата калия и биомассы спирулины не является токсичным, а спиртовой экстракт относится к 4 классу токсичности соединений (малотоксичные соединения).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

- 1 Кухаренко, Т.А. Химия и генезис ископаемых углей. – М., Госгортехиздат, 1960. – 156 с.
- 2 Аввакумова, Н.П. Биохимические аспекты терапевтической эффективности гумусовых кислот лечебных грязей: Монография. – Самара: ГП «Перспектива»; СамГМУ, 2002. – 124 с.
- 3 Ziechmann, W. Humic substances and their Medical Effectiveness // 10<sup>th</sup> International Peat Congress, Stuttgart. – 1996. – V. 2. – P. 546-554.
- 4 Строганов, Н.С. Методика определения токсичности водной среды / Н.С. Строганов // Методики биологических исследований по водной токсикологии. – М.: Наука, 1971. – С. 14-60.
- 5 Строганов, Н.С. Ведение лабораторной культуры и определение плодовитости дафний в ряду поколений / Н.С. Строганов, Л.В. Колосова // Методики биологических исследований по водной токсикологии. – М.: Наука, 1971. – С. 210-216.
- 6 Платонов, А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, компьютерные методы. – М., 2000. – 52 с.

## RESEARCH ON TEST-OBJECTS AS DAPHNES THE TOXICITY OF FEED ADDITIVE ON THE BASIS OF POTASSIUM HUMATE

© 2010 S.A. Simakova<sup>1</sup>, P.P. Purygin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Samara State Transport University

<sup>2</sup> Samara State University

In the given work studying on water and spirit extracts the toxicity of feed additive on the basis of potassium humate by Stroganov N.S.'s standard technique on daphnes as test-objects is examined.

Key words: *potassium humate, food additives, toxicity, daphnes*

Svetlana Simakova, Post-graduate Student. E-mail: [elliya@mail.ru](mailto:elliya@mail.ru)  
Petr Purygin, Doctor of Chemistry, Professor, Head of the  
Department of Organic, Bioorganic and Medical Chemistry. E-mail:  
[casiopeya13@mail.ru](mailto:casiopeya13@mail.ru)