

## РЫБОХОЗЯЙСТВЕННАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 574.64

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ БИОЦИДОВ (НА ПРИМЕРЕ ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНОВ) НА ГИДРОБИОНТОВ РАЗЛИЧНЫХ СИСТЕМАТИЧЕСКИХ ГРУПП**

© 2010 г. Г.П. Шаляпин

*Московский государственный университет технологий и управления,  
департамент по рыбному хозяйству, Москва 109004*

Поступила в редакцию 04.09.2009 г.

Окончательный вариант получен 21.10.2009 г.

Представлены результаты экспериментальных исследований, направленных на изучение стабильности полигексаметиленгуанидин-фосфата (далее – ПГМГФ) и полигексаметиленгуанидин-гидрохлорида (далее – ПГМГГ) в водной среде, влияния их на основные гидрохимические показатели воды, а также на гидробионтов различных систематических групп. Биологически обосновывается предельно допустимая концентрация ПГМГФ для вод водных объектов рыбохозяйственного значения (далее – ПДК). Приводятся основные показатели токсичности ПГМГФ и ПГМГГ: зона токсического действия для различных тест-организмов, остролетальные, хронически летальные, сублетальные и максимально допустимые концентрации реагентов для гидробионтов, а также делается сравнение степени активности веществ.

*Ключевые слова:* ПГМГ-гидрохлорид, ПГМГ-фосфат, реагент, максимальная допустимая концентрация, стабильность, фогуцид, гидробионты.

### ВВЕДЕНИЕ

В Перечень нормативов предельно допустимых концентраций и ориентировочно безопасных уровней воздействия вредных веществ для воды водных объектов рыбохозяйственного значения (Перечень..., 1999) включен полигексаметиленгуанидин-гидрохлорид (ПГМГГ), используемый в народном хозяйстве как антисептик, ПДК которого составляет 0,01 мг/л. Между тем, ежегодно в промышленность внедряются новые реагенты, используемые для очистки вод от организмов-загрязнителей, для которых с целью сохранения объектов животного мира и среды их обитания необходимо установить степень токсичности и определить соответствующие нормативы. Так, с конца 90-х годов в качестве альтернативы указанному веществу в промышленности предлагается использовать полигексаметилен-гуанидин-фосфат (ПГМГФ). Однако, его влияние на гидробионтов, как отмечают многие авторы, не достаточно изучено (Константиновская, 2006; Станкевич и др., 2007), а рыбохозяйственная ПДК не установлена, что показал информационно-патентный поиск.

Учитывая расширяющийся спектр применения ПГМГФ в хозяйственной деятельности человека, подтверждаемый его производителями (Станкевич и др., 2007), а также высокую вероятность попадания данного вещества в водные объекты, необходимо в возможно короткие сроки изучить его токсические свойства.

В случае, если ПДК ПГМГФ будет сопоставима с таковой ПГМГГ и при этом воздействие на гидробионтов более щадящим, то, безусловно, преимущество в хозяйственном использовании необходимо будет отдать первому препарату, как веществу, не содержащему в своей структуре хлора, обладающего негативными, загрязняющими окружающую среду качествами (Кирсо и др., 1988; Флеров, 1989; Ильницкий, 1993; Кузубова, Морозова, 1993; Павлов, 2007).

Цель работы – оценить активность данных веществ на гидробионтов различных систематических групп. В связи с этим, были поставлены следующие задачи:

- 1) изучить стабильность препарата ПГМГФ в водной среде;
- 2) установить пороги влияния исследуемого вещества на санитарный режим;
- 3) определить параметры острой, подострой, хронической токсичности и недействующие величины токсичности для гидробионтов;
- 4) установить класс опасности изучаемого реагента;
- 5) разработать биологическое обоснование рекомендаций по установлению ПДК ПГМГФ, с указанием ЛПВ;
- 6) сопоставить полученные данные с результатами аналогичной работы Петрозаводского госуниверситета по обоснованию ПДК ПГМГГ и провести сравнение токсикорезистентности гидробионтов к воздействию ПГМГФ и ПГМГГ;
- 7) по результатам проведенной оценки разработать рекомендации о возможности применения исследованных веществ с природоохранной точки зрения.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Препарат ПГМГ-фосфат (фогуцид), исследованный на токсичность, является катионоактивным полимерным соединением, производным азотистого основания – гуанидина. Эмпирическая формула:  $(C_7N_2H_{14})_nNH_4PO_4$ . Вещество производится в виде порошка белого цвета. Хорошо растворим в воде, в водных растворах не имеет запаха. Молекулярная масса исследованного вещества – 1 тыс.а.ед.

Препарат ПГМГ-гидрохлорид (метацид) имеет эмпирическую формулу:  $(C_7N_2H_{14})_nNH_4Cl$ . Синтезируется в виде порошка желтоватого цвета. Не имеет запаха и хорошо растворяется в воде (Дезсредства, справочник..., 1996). Молекулярная масса исследованного ПГМГГ – 10 тыс.а.ед. Наличие гуанидиновой группы в молекуле ПГМГ, обеспечивает указанному веществу высокую бактерицидную и фунгицидную активность (Ефимов и др., 2000).

Эксперименты с ПГМГ-фосфатом проведены нами согласно Методическим указания по установлению предельно допустимых концентраций вредных веществ для рыбохозяйственных водоемов и дополнительных характеристик, необходимых для расчета ПДС, предложенным ГосНИОРХ (Методические указания..., 1989).

Тест-объектами в токсикологических опытах служили гидробионты различного трофического уровня: сапрофитные бактерии, зеленые водоросли *Scenedesmus quadricauda*, высшие растения *Elodea canadensis*, планктонные ракообразные *Daphnia magna*, моллюски *Sphaerium corneum*, олигохеты *Tubifex tubifex*, а также пять видов рыб: радужная форель *Parasalmo mykiss*, европейская ряпушка *Coregonus albula*, окунь *Perca fluviatilis*, данио рерио *Brachydanio rerio*, карп *Cyprinus carpio* и барбус огненный *Puntius conchonius*. Рыбы использовались на разных стадиях онтогенеза (икра, предличинки, личинки, молодь, взрослые особи).

Определение массовой доли основного вещества в растворах для контроля содержания ПГМГ-фосфата в воде применялся фотометрический метод определения в присутствии адсорбционного катализатора эозин-Н (0,05%-раствор) по методике, разработанной Иркутским НИИ химии СО РАН (Методика определения..., 2000).

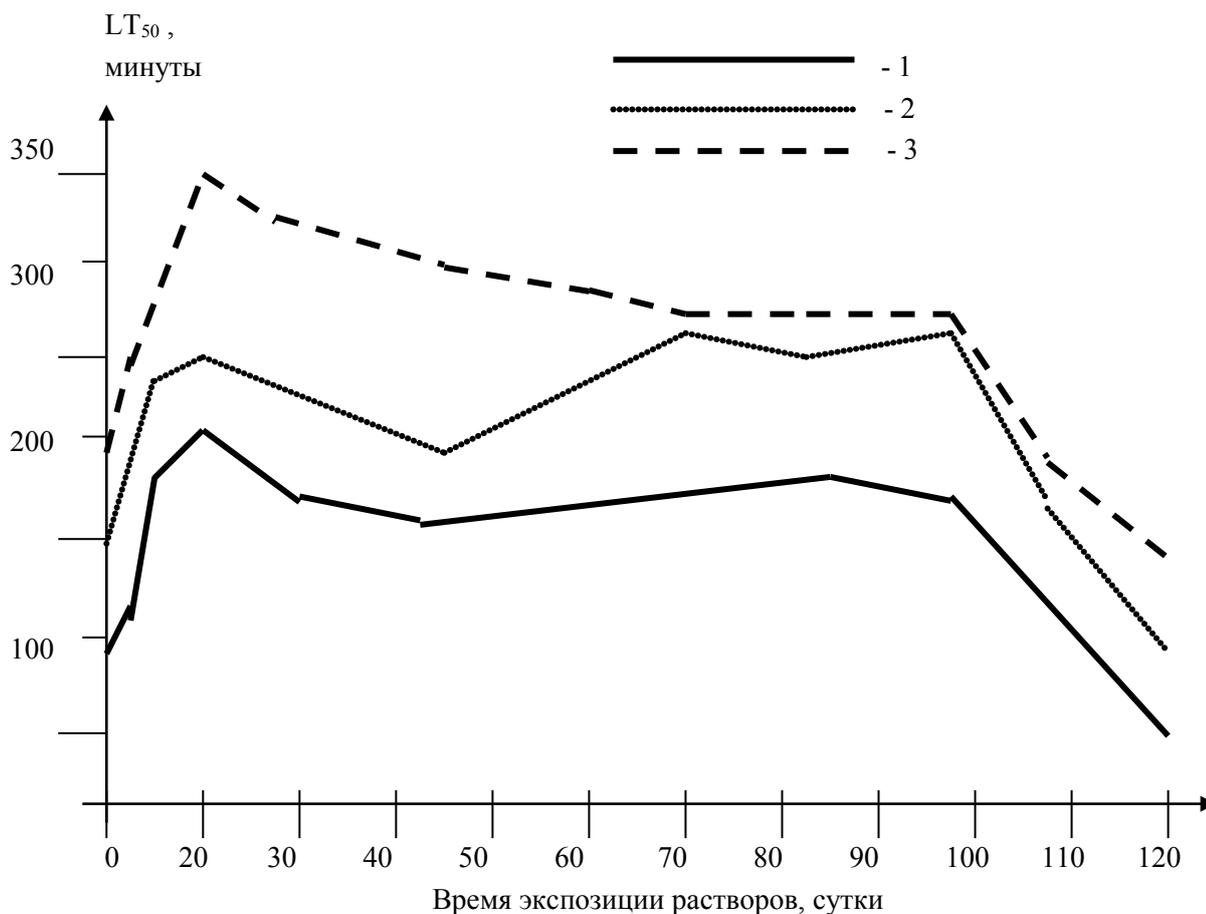
Статистическая обработка результатов исследований выполнена на IBM PC с применением основных программ операционной системы Windows XP.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С целью определения биологически обоснованной предельно допустимой концентрации ПГМГФ для вод водных объектов рыбохозяйственного значения был проведен полный комплекс обязательных исследований, определяющих влияние указанного вещества на гидрохимический режим водных объектов и гидробионтов, представляющих основные трофические звенья водной экосистемы.

Исследование влияния препарата на основные химические показатели воды проводили в диапазоне концентраций 250-0,001 мг/л. В указанном интервале ПГМГФ не оказывал существенного действия на органолептические свойства воды, pH, количественное содержание кислорода, нитритов, аммонийного азота, БПК<sub>5</sub> и БПК<sub>20</sub>. Отмечалось значительное увеличение содержания нитратного азота в концентрации 100 мг/л. Наиболее чувствительным показателем действия препарата на гидрохимический режим оказалась перманганатная окисляемость, характеризующая количество растворенных органических веществ. Начиная с концентрации 1 мг/л, наблюдалось резкое ее возрастание. Учитывая этот лимитирующий фактор, максимально недействующей на гидрохимические показатели признана концентрация ПГМГФ – 0,5 мг/л.

Данные результатов изучения стабильности вещества в водной среде позволяют отнести его к группе стабильных веществ, обладающих высокой устойчивостью свойств (рис.). При этом установлено, что препарат не обладал летучестью и грунт не оказывал заметного влияния на динамику процессов его детоксикации.



**Рис.** Зависимость  $LT_{50}$  дафний от времени экспозиции растворов ПГМГФ в открытых сосудах (основной опыт): 1 – кривая концентрации 1 г/л; 2 – кривая концентрации 0,5 г/л; 3 – кривая концентрации 0,25 г/л.

**Fig.** Dependence  $LT_{50}$  dafnias of time exposition solution PHMGF in open vessels (basis experiment): 1 – curves concentrations 1 g/l; 2 – curves concentrations 0,5 g/l; 3 – curves concentrations 0,25 g/l.

Действие препарата на гидробионтов испытывали в диапазоне концентраций 500-0,0001 мг/л. В ходе исследований влияния вещества на тест-организмы, установлен характер токсического действия на них, определены границы летальных, сублетальных и недействующих концентраций. При этом  $TL_m$  находится в пределах 5-0,001 мг/л, а максимальными недействующими концентрациями являются для бактериопланктона, дафний и рыб – 0,01 мг/л, сценедесмуса – 0,001 мг/л, элодеи и шаровок – 0,1 мг/л, олигохет – 0,5 мг/л.

По характеру действия ПГМГФ можно сравнить с отравлениями органическими веществами фенольного ряда, подробно исследованными Б.А. Флеровым (Флеров, 1973). В летальных концентрациях реагент оказывал на рыб нервно-паралитическое действие и при длительном времени экспозиции вызывал необратимые последствия в организме.

Сравнивая полученные в ходе проведенных нами исследований показатели токсичности ПГМГФ с аналогичными показателями ПГМГГ, а также, делая оценку токсикорезистентности гидробионтов к воздействию указанных веществ, необходимо отметить следующее.

Некоторые тест-объекты обладают примерно одинаковой устойчивостью к воздействию указанных реагентов, что отражено в таблице. К ним относятся следующие гидробионты: сапрофиты, бентосные организмы (шаровки и олигохеты), рыбы (окунь). Такие гидробионты как дафнии, ряпушка и форель имеют более низкие пороги устойчивости к ПГМГФ, чем к ПГМГГ, хотя установленные в ходе экспериментов максимальные допустимые концентрации для них совпадают. Определены «слабые звенья» в цепочке тест-организмов, выбранных для токсикологических исследований – в обоих случаях это водоросль сценедесмус, однако зона токсического действия ПГМГФ для нее имеет другие диапазоны, чем для ПГМГГ, как определено исследователями Петрозаводского госуниверситета (Научное обоснование ..., 1995), а ПДК в первом случае на несколько порядков ниже, чем во втором (0,01 мг/л и 0,001 мг/л).

**Таблица.** Влияние ПГМГФ и ПГМГГ на гидрохимические показатели и гидробионтов.

**Table.** The effect PHMGF and PHMGG on basic hydrochemical water indexes and hydrobionts.

Охраняемое звено	Организм тест- объект	Длительность опыта, сутки	Тест-функция, тест-показатель	Концентрация, мг/л			
				Остро летальная	Хронически летальная	Суб-летальная	Максимально допустимая
1	2	3	4	5	6	7	8
Водная среда	----	20	Цвет	---	---	---	---
			Запах	---	---	---	---
			Пенообразование	---	---	---	5,0/ ---*
			pH	---	---	---	100/100
			Кислород	---	---	---	100/100
			Перманганатная окисляемость	---	---	---	0,5/0,5
			Азот аммонийный	---	---	---	1,0/1,0
			Азот нитритный	---	---	---	100/100
			Азот нитратный	---	---	---	10/10
			БПК5	---	---	---	10/10
БПК20	---	---	---	10/10			
Редуценты	Сапрофиты	20	Численность	1,0/1,0	---	0,1/0,1	0,01/0,01
Продуценты	Водоросли:	28	Число клеток	1,0/5,0	0,01/0,1	---	0,001/0,01

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ БИОЦИДОВ

	<i>S. quadricauda</i>		Фотосинтез	---	---	0,01/0,1	0,001/0,01
	Макрофиты <i>E. canadensis</i>	20	Выживаемость	100/100	10/10	---	1,0/1,0
			Прирост основного побега	---	---	1,0/1,0	0,1/0,1
Консументы I порядка: Зоопланктон	<i>D. magna</i>	57	Выживаемость	2,5/2,5	0,25/0,25	---	0,1/0,1
			Плодовитость	---	---	---	0,1/0,1
			Морфологические показатели	---	---	0,1/0,1	0,01/0,01
Зообентос	<i>S. corneum</i>	60	Выживаемость	5,0/5,0	1,0/1,0	---	0,5/0,5
			Плодовитость	---	---	0,5/0,5	0,1/0,1
			Поведенческие реакции	---	---	---	1,0/1,0
Зообентос	<i>T. tubifex</i>	62	Выживаемость	10/10	---	---	5,0/5,0
			Привес	---	---	1,0/1,0	0,5/0,5
			Отмирание задних концов тела	---	---	2,5/2,5	1,0/1,0
Консументы II порядка:  Рыбы	<i>C. albula</i> : икра, предличинки	45	Выживаемость	10/25	2,5/5,0	---	2,5/2,5
			Морфологические показатели	---	---	---	2,5/2,5
	личинки	25	Выживаемость	5,0/10	2,5/5,0	---	2,5/2,5
			Поведенческие реакции	---	---	1,5/1,0	1,0/0,5
	<i>P. mykiss</i> : икра, предличинки, личинки	80	Выживаемость	5,0/25	2,5/2,5	---	1,5/1,0
			Морфологические показатели	---	---	1,0/1,0	0,5/0,5
	<i>B. rerio</i> : икра, предличинки личинки	20	Выживаемость	5,5/---	2,5/---	---	1,0/---
			Поведенческие реакции	---	---	---	1,0/---
			Морфологические показатели	---	---	---	1,5/---
	<i>P. fluviatilis</i> (2+)	60	Выживаемость	5,0/5,0	1,0/1,0	---	0,5/0,5
			Органолептика мяса рыб	---	---	0,1/0,1	0,01/0,01
			Патогистология	---	---	0,1/0,1	0,01/0,01
<i>C. carpio</i> (0+)	120	Выживаемость	6,5/---	3,0/---	---	2,0/---	
		Поведенческие реакции	---	---	---	2,5/---	
		Морфологические показатели	---	---	---	2,0/---	
		Органолептика мяса рыб	---	---	---	1,5/---	
		Патогистология	---	---	---	1,0/---	
<i>P. conchonius</i> (6 месяцев)	180	Выживаемость	10/---	4,0/---	---	1,5/---	
		Поведенческие реакции	---	---	---	3,0/---	
		Морфологические показатели	---	---	---	2,5/---	
		Патогистология	---	---	---	1,0/---	
		Репродуктивные показатели	---	---	---	1,5/---	

**Примечание:** «\*» – в числителе показатель по ПГМГФ, в знаменателе – по ПГМГГ.

«---» – отсутствие результатов исследования.

**Note:** «\*» – in the numerator of indicate index by PHMGF, in the denominator – by PHMGG.

«---» – absence of results of researches.

Некоторые ученые-токсикологи отмечают (Ефимов и др., 2000), что ПГМГГ обладает более токсичными свойствами, чем ПГМГФ. Однако они же говорят о необходимости учитывать то, что активность полигуанидинов усиливается по мере увеличения их молекулярной массы, а также температуры, pH среды и иных факторов. Кроме того, отмечается, что активность ПГМГФ растет по мере увеличения детергентности, с чем связано в частности усиление его антибактериальных свойств, но эта закономерность нарушается, когда число углеродных атомов в алифатической цепочке начинает превышать шестнадцать.

Необходимо отметить, что в нашем случае использовался реагент, содержащий молекулу ПГМГФ массой 1 тыс.а.ед., в отличие от экспериментов, проведенных Петрозаводским госуниверситетом с ПГМГГ, у которого молекулярная масса составляла 10 тыс.а.ед. (Научное обоснование ..., 1995).

Учитывая изложенное, можно констатировать, что нельзя однозначно утверждать о ПГМГГ как о более активном биоциде, чем ПГМГФ. Это, прежде всего, следует из результатов проведения опытов, в ходе которых отмечалось примерно одинаковое воздействие указанных веществ на исследуемые тест-объекты, за исключением на порядок более токсичного воздействия фогуцида, по сравнению с метацидом, на организмы фитопланктона (сценедесмус).

### ВЫВОДЫ

В ходе экспериментов выявлены характер и степень воздействия ПГМГФ на водную среду (гидрохимический режим, процессы самоочищения) и водные организмы (редуценты, продуценты, консументы), изучена стабильность токсических свойств водных растворов, установлены и обоснованы лимитирующие показатели вредности и предельно допустимые концентрации указанного препарата, что позволило сравнить полученные показатели с аналогичными данными по ПГМГГ.

Вместе с тем данные экспериментов показали, что наиболее чувствительным к действию ПГМГФ оказались зеленые водоросли сценедесмус, угнетение жизненно важных функций которой не отмечен только при концентрации препарата 0,001 мг/л. Таким образом, данную концентрацию можно предложить в качестве ПДК ПГМГФ для вод водных объектов рыбохозяйственного значения. ЛПВ – токсикологический.

Согласно классификации веществ по их токсичности для водных живых организмов, исследованные реагенты следует отнести к группе особо опасных загрязняющих веществ для вод водных объектов рыбохозяйственного значения. По степени острой токсичности для рыб и иных гидробионтов оба вещества по классификации Л.А. Лесникова, К.К. Врочинского (Лесников, 1979; Методические указания..., 1989) относятся к особотоксичным, так как их  $CL_{50}$  находится в пределах до 0,5 мг/л.

Рекомендации о замене в хозяйственной деятельности человека одного вещества другим, как более эффективного и не содержащего хлора, обоснованы, однако необходимо скорейшее утверждение и внесение в установленном порядке ПДК ПГМГФ в вышеуказанный Перечень рыбохозяйственных нормативов. При этом необходимо учитывать, что при определении ПДК указанного токсиканта, необходимо брать на исследование более активную агрегацию реагента, которая зависит в первую очередь от молекулярной массы основного вещества.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

*Дезсредства* / Справочник под ред. Монисова А.А., Шандалы М.Г. М: ТОО Рарорь, 1996. 124 с.

*Ефимов К.М., Гембицкий П.А., Снежко А.Г.* Полигуанидины – класс малотоксичных дезсредств пролонгированного действия // Дезинфекционное дело / электронная версия журнала №4. [http: www.media.ru.](http://www.media.ru), 2000. 10 с.

*Ильницкий А.П.* Канцерогенные вещества в водной среде. М.: Наука, 1993. 222 с.

*Курсо У.Э., Стом Д.И., Белых Л.И., Ирха Н.И.* Превращение канцерогенных и токсических веществ в гидросфере. Таллин: Валгус, 1988. 271 с.

*Константиновская С.В.* Исследование действия биоцидов (на примере полигексаметиленгуанидинов) на эколого-функциональное состояние водоросли *Chlorella pyrenoidosa*: Автореферат диссертации на соискание учен. степени кандидата биол. наук. М.: РУДН, 2006. 26 с.

*Кузубова Л.И., Морозова С.В.* Органические загрязнители питьевой воды. Аналитический обзор. Новосибирск, 1993. 166 с.

*Лесников Л.А.* Разработка нормативов допустимого содержания вредных веществ в воде рыбохозяйственных водоемов // Вопросы методик в водной токсикологии: Сб. науч. работ ГОСНИОРХ. 1979. Вып. 144. С. 3-41.

*Методические* указания по установлению предельно допустимых концентраций вредных веществ для рыбохозяйственных водоемов и дополнительных характеристик, нужных для расчета ПДС. Л.: ГосНИОРХ, 1989. 47 с.

*Методика* определения массовой доли основного вещества (полигексаметиленгуанидин-фосфата). Иркутск: ИрИОХ, 2000. 15 с.

*Научное* обоснование ПДК двух препаратов – модификаторов текстильной промышленности для рыбохозяйственных водоемов: Отчет о НИР (заключит.) / Петрозавод. гос. универ. им. О.В. Куусинена; руководитель В.П. Моисеева, 1991. 120 с.

*Павлов Д.Ф.* Некоторые проблемы загрязнения водоемов России органическими загрязняющими веществами – хлорорганическими пестицидами и полициклическими ароматическими углеводородами // Физиология и токсикология пресноводных животных / Сб. науч. тр. НИИ биол. внутр. вод РАН. Рыбинск: Рыбинский дом печати, 2007. С. 178-205.

*Перечень* рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО, 1999. 304 с.

*Станкевич В.К., Кухарев Б.Ф., Шелупаев А.П., Клименко Г.Р., Лопырев В.А.* Анавидин – универсальный антисептик и дезинфектант нового поколения // Тез. докладов III Всеросс. науч.-методич. конференц. Создание новых физиологически активных веществ. Воронеж, Март. 2007. С. 162-174.

*Флеров Б.А.* Экспериментальное исследование фенольного отравления у рыб // Влияние фенолов на гидробионтов / Тр. инст. биол. внутр. вод АН СССР. 24-й выпуск. Л.: Наука, 1973. С. 5-39.

*Флеров Б.А.* Эколого-физиологические аспекты токсикологии водных животных. Л.: Наука, 1989. 144 с.

**THE INVESTIGATION OF BIOCIDES ACTION (ON AN EXAMPLE OF POLYHEXAMETHYLENGUANIDINIUM) ON HYDROBIONTS OF DIFFERENT SYSTEMATIC GROUPS**

© 2010 y. G.P. Shalyapin

*Moscow State University of Technologies and Management, Moscow*

In this article are presented the results of experimental researches on studying the stability of PHMG-phosphate preparation in water environment, its effect on basic hydrochemical water indexes and also hydrobionts of different systematic groups, biological explanation of maximum allowable concentration of indicated matter (MAC) for water objects of fisheries significance. In the article the basic indexes of PHMG-phosphate toxicity are shown: the area of toxic effect for different test-organisms, critically mortals, chronically mortals, sub mortals and maximum allowable concentrations (MAC) of reagent for hydrobionts. Obtained results are compared with the same for another reagent of PHMG-hydrochloride, fisheries MAC of which (as against PHMG-phosphate) was determined before and confirmed in established order.

*Key words:* PHMG-hydrochloride, PHMG-phosphate, reagent, maximum allowable concentration, stability, fogucid, hydrobionts.