Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

УКРАЇНСЬКА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК

ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»

**ПАЩУК Юлія Григорівна**

УДК 619:615.9:636.9:614.7:632.95

**ТОКСИКОЛОГІЧНА ТА САНІТАРНО-ГІГІЄНІЧНА**

**ХАРАКТЕРИСТИКА ФУРАДАНУ**

16.00.04 – ветеринарна фармакологія та токсикологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата ветеринарних наук

Харків – 2006

**Дисертацією є рукопис.**

**Робота виконана в ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини».**

|  |  |
| --- | --- |
| Науковий керівник – | **доктор ветеринарних наук, професор, академік УААН**Малинін Олег Олексійович,**ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,****заступник директора з наукової роботи.** |

|  |  |
| --- | --- |
| Офіційні опоненти: | **доктор ветеринарних наук,****професор, академік УААН**Хмельницький Григорій Олександрович,**Національний аграрний університет,****директор НДІ здоров’я тварин;****доктор ветеринарних наук, професор**Гуфрій Дмитро Федорович,**Львівська національна академія ветеринарної медицини ім. С.З. Ґжицького, завідувач кафедри фармакології та токсикології.** |

|  |  |
| --- | --- |
| Провідна установа – | **Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, лабораторія фармакології і токсикології,****Міністерство аграрної політики України, м. Львів.** |

**Захист відбудеться «\_18\_» жовтня 2006 р. о 900 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.359.01 в ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» за адресою: 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83.**

**З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» за адресою: 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83.**

**Автореферат розісланий « 1 » вересня 2006 р.**

**Вчений секретар**

**спеціалізованої вченої ради,**

**доктор ветеринарних наук, професор \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Бабкін А.Ф.**

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** В умовах поширеного використання пестицидів у сільському господарстві неможливо виключити їх негативний вплив на здоров’я тварин. Широке застосування цих сполук може спричиняти кількісні та якісні зміни біотопу й біоценозу аграрної екосистеми, зокрема порушення взаємозв’язку тварин і навколишнього середовища (Проданчук Н.Г., Кокшарева Н.В., 2001; Козак М., 2005; Хмельницький Г.О., Якубчак О.М., 2005).

Використання токсикантів без дотримання встановлених правил може призвести до генетичних порушень: аномалій розвитку; зниження репродуктивної здатності, продуктивності тварин та загальної резистентності організму (Проданчук Н.Г., Подрушняк А.Е., Антонович Е.А., 2001; Гуфрій Д.Ф., Гунчак В.М., Коцюмбас І.Я., 2004). Накопичення пестицидів може відбуватися в продуктах харчування, кормах, об’єктах навколишнього середовища (ґрунті, воді, повітрі) (Чибураев В.И., 2003; Потапов А.И., 1997; [Barata C](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&itool=pubmed_Abstract&term=%22Barata+C%22%5BAuthor%5D)., 2004), а також у органах і тканинах тварин (Шепельська Н.Р., 2001).

Карбаматні пестициди, до яких належить фурадан (діюча речовина – карбофуран), широко використовують у рослинництві через їх високу ефективність, помірну персистенцію в навколишньому середовищі та відносно невисоку здатність до кумуляції в організмі ссавців (Шепельська Н.Р., 2001, Малинин О.А., Хмельницкий Г.А., Куцан А.Т., 2002).

Останніми роками в Україні почастішали випадки отруєння тварин фураданом (Новожицька Ю.М., 1998). Проте контроль стосовно вмісту залишкових кількостей цього пестициду в об’єктах тваринного походження та діагностика можливих отруєнь тварин не можуть бути повністю забезпечені через низку хиб методу його визначення в умовах відповідних лабораторій.

Залишаються невивченими питання персистенції досліджуваного пестициду в навколишньому середовищі, зокрема й на рослинах, насіння яких обробляють протруйниками із зазначеною вище діючою речовиною.

За даними літератури (Gupta R.C., 1994; Малинин О.А., Хмельницкий Г.А., Куцан А.Т., 2002), карбофуран є високотоксичною речовиною. Токсикокінетика цього препарату на тваринах вивчена недостатньо. Стосовно токсикодинаміки згаданого вище пестициду, то дані літератури є суперечливими та не можуть бути використані для оцінки дії фурадану на окремі функції організму тварин.

Отже, існує необхідність здійснення досліджень щодо розробки високочутливого методу визначення залишкових кількостей карбофурану (фурадану) в об’єктах тваринного походження, вивчення процесів токсикокінетики, впливу пестициду на основні функції організму тварин і його персистенції в навколишньому середовищі.

**Зв’язок роботи з науковими програмами.** Тема дисертаційної роботи виконана відповідно до Державного тематичного плану наукових досліджень ІЕКВМ УААН: завдання 11 ”Розробити методи визначення і засоби профілактики впливу негативних факторів зовнішнього середовища на організм сільськогосподарських тварин з метою одержання екологічно безпечних продуктів тваринництва” (номер державної реєстрації 0101U001617), 2001 – 2005 рр.

**Мета і завдання дослідженння.** Метою роботи було вивчити токсикологічну та санітарно-гігієнічну характеристики фурадану (карбофурану). Для її досягнення необхідно було вирішити такі завдання:

* розробити методику визначення карбофурану (фурадану) в об’єктах тваринного походження та валідувати її згідно зі стандартом ІSO 17025;
* установити параметри гострої токсичності фурадану для щурів за умов його перорального введення;
* вивчити токсикокінетику пестициду на щурах і курах після одноразового перорального введення фурадану та можливу його біотрансформацію в організмі тварин;
* вивчити вплив фурадану на функціональний стан печінки курей за умов його одноразового перорального введення;
* вивчити вплив технологічної обробки курячого м’яса на вміст залишкових кількостей пестициду;
* дослідити розподіл залишкових кількостей карбофурану в рослинах, його біотрансформацію в них та терміни зберігання.

**Об’єкт дослідження**: токсикологічна та санітарно-гігієнічна характеристики фурадану.

**Предмет дослідження**: параметри токсичності фурадану; клінічні, біохімічні, гематологічні та патологоанатомічні показники за умов отруєння; персистенція в навколишньому середовищі.

**Методи дослідження***.* Для досягнення мети та вирішення поставлених завдань використовували загальноприйняті клінічні, токсикологічні, хіміко-аналітичні, біохімічні, гематологічні, патологоанатомічні та статистичні методи досліджень.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Розроблено нову методику визначення залишкових кількостей карбофурану (фурадану) в кормах і тканинах тваринного походження (м’ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця), яка відповідає вимогам стандарту ISO 17025 і «Європейської інструкції щодо застосування аналітичних методів та інтерпретації результатів ЄС 657/2002». Новизна та актуальність розробленої методики визначення карбофурану підтверджена патентом: ”Спосіб визначення карбофурану (фурадану) в біологічних об’єктах” (патент № 20031213293, 72166 А Україна, 7 G01N30/00).

Уперше в Україні вивчено токсикокінетичні властивості карбофурану та його біотрансформацію в організмі щурів і курей за умов одноразового перорального введення. Досліджено гепатотоксичну дію пестициду в дослідах на курах після одноразового перорального введення фурадану. Вивчено вплив технологічної обробки курячого м’яса на вміст у ньому залишків карбофурану. Досліджено розподіл залишкових кількостей карбофурану та його біотрансформацію в соняшнику, цукровому та кормовому буряках після обробки їх насіння досліджуваним пестицидом у виробничих умовах.

**Практичне значення одержаних результатів.** На підставі здіснених досліджень розроблені ”Методичні вказівки щодо визначення карбофурану (фурадану) в кормах і тканинах тваринного походження (м’ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця) способом тонкошарової хроматографії”, що затверджені Державним департаментом ветмедицини МінАП України (наказ № 53 від 30 червня 2005 р.). Визначено особливості токсикокінетики та токсикодинаміки фурадану в організмі тварин та об’єктах довкілля, які можуть бути використані при обґрунтуванні максимально допустимих рівнів пестициду та в діагностичній практиці.

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно проведено пошук та аналіз літератури, виконано всі види експериментальних досліджень (як лабораторні, так і у виробничих умовах) проаналізовано, узагальнено та статистично оброблено отримані дані експериментальних досліджень.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи доповідалися, обговорювалися та були схвалені на щорічних звітних сесіях ученої ради ІЕКВМ УААН у 2003 – 2005 рр.; Міжнародній науково-практичній конференції молодих учених (1 – 3 грудня 2003 р., м. Харків); Міжнародній науково-практичній конференції «Ветеринарна медицина – 2004» (24 – 29 травня 2004 р., м. Феодосія); Міжнародній науково-практичній конференції «Ветеринарна медицина – 2005» (30 травня – 4 червня, м. Ялта); V Міжнародній науково-практичній конференції «Проблеми неінфекційної патології тварин» (3 – 4 листопада 2005 р., м. Біла Церква); Міжнародному науково-практичному семінарі «Проблеми загальної ветеринарної профілактики (гігієна та санітарія, екологія, добробут тварин, етологія)» (16 – 17 березня 2006 р., м. Львів).

**Публікації.** За результатами дисертаційної роботи опубліковано 4 наукові статті у фахових виданнях, що входять до переліку, затвердженого ВАК України.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, власних досліджень та їх аналізу, висновків і пропозицій до практики, списку літератури та додатків. Основний зміст дисертації викладено на 141 сторінці комп’ютерного тексту та ілюстровано 19 таблицями і 22 рисунками. Список літератури містить 295 найменувань, зокрема 215 авторів з далекого зарубіжжя.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Робота виконувалась упродовж 2003 – 2005 рр. у лабораторії токсикологічного моніторингу Центру токсикологічних досліджень Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН.

У процесі виконання експериментальної частини роботи проведено 1770 токсикологічних, 96 гематологічних та 780 біохімічних досліджень.

Для розробки методики тонкошарової хроматографії щодо визначення залишкових кількостей карбофурану (фурадану) в об’єктах тваринного походження та відпрацювання способів очищення екстрактів використовували фільтрацію з подальшим застосуванням хроматографії на колонці. Стандартні розчини карбофурану штучно вносили в дослідні матриці: м’ясо, печінку, молоко, яйця, жир.

Експериментальні роботи щодо встановлення валідаційних характеристик розробленого нами методу тонкошарової хроматографії для визначення залишкових кількостей карбофурану в об’єктах тваринного походження здійснювали згідно з вимогами стандарту ІSO 17025. За цих умов фурадан у кількості 2 та 10 мкг вносили в матрицю зразка (куряче м’ясо) та визначали такі валідаційні параметри: специфічність (specіfіcіty), точність (precіsіon) та правильність (accuracy), стабільність аналіту в розчині й матриці (stability), лінійність (lіnearіty), збіжність (repeatabіlіty), відтворюваність (reproducіbіlіty), межу детектування (lіmіt of detectіon) і виявлення методу (lіmіt of quantіtatіon).

Експериментальні дослідження на тваринах здійснювалися відповідно до методичних рекомендацій ”Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин” (Косенко М.В., Малик О.Г., Коцюмбас І.Я., 1997).

У лабораторних дослідах використано 58 нелінійних білих щурів-самців масою тіла 180 – 400 г та 60 курей кросу важка м’ясна Гібро ПГ масою тіла 3000 – 4000 г та віком 1,2 – 1,3 року.

Тварин утримували у віварії ННЦ «ІЕКВМ», годували згідно з раціонами та нормами, рекомендованими для даних видів лабораторних тварин і сільськогосподарської птиці. Доступ до води був необмеженим.

Визначення ЛД50 карбофурану після перорального введення здійснювали за допомогою Microsoft Excel, підпрограми Accute\_LD50\_Calc, реалізованої на VBA (Visual Basic for Application) (Бабич П.Н., Чубенко А.В., Лапач С.Н., 2003), яка базується на методі найменших квадратів пробіт-аналізу.

Для визначення токсикокінетичних властивостей препарату 20 щурам перорально вводили згаданий вище пестицид у дозі 5,0 мг діючої речовини (карбофурану) на один кілограм маси тіла. Через чотири години, одну, три, сім та чотирнадцять діб здійснювали декапітацію тварин після легкого ефірного наркозу та відбирали проби внутрішніх органів і тканин для визначення залишкових кількостей досліджуваного препарату та продуктів його біотрансформації.

Токсикокінетику карбофурану після одноразового перорального введення також вивчали на курах. Було сформовано три групи тварин, яким уводили фурадан у дозах 2,5 мг/кг та 5,0 мг/кг за допомогою зонду, птиці контрольної групи вводили воду. Через чотири години, одну, три та сім діб здіснювали декапітацію птиці після попереднього легкого ефірного наркозу і відбирали проби внутрішніх органів та тканин для визначення залишкових кількостей карбофурану й продуктів його біотрансформації. У кожний термін проведення експерименту відбирали й досліджували проби крові та печінки для вивчення гематологічних і біохімічних змін, які, можливо, викликає пестицид.

Здійснені дослідження включали визначення кількості еритроцитів на КФК-2 за допомогою калібрувальних графіків, загального гемоглобіну за гемоглобінціанідним методом (Кондрахін І.П., 1985).

Також проводили визначення протромбінового часу в плазмі без тромбоцитів (Меньшиков В.В., 1987; Гаранина Е.Н., 1994).

Загальний білок; співвідношення білкових фракцій; загальний та прямий білірубін; активність аспартатамінотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1) та аланінамінотрансферази (АлАТ, КФ 2.6.1.2), холінестерази (ХЕ, КФ 3.1.1.8), лужної фосфатази (ЛФ, КФ 3.1.3.1); тимолову пробу визначали за допомогою стандартних наборів ”Філісіт-Діагностика” (Україна, Дніпропетровськ, 2005 р.).

Крім того, визначали активність лактатдегідрогенази (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) за методом Севела-Товарек та ставили пробу Вельтмана.

Визначення активності ферментів: АсАТ, АлАТ, ХЕ, ЛФ та ЛДГ здійснювали в гомогенаті печінки. Співвідношення наважки тканини (1 г) та об’єму середовища гомогенізації становило 1:5. Отриманий гомогенат центрифугували при 600 об/хв упродовж 10 хвилин та фільтрували. Після цього гомогенат розбавляли в 10 разів, що дорівнювало співвідношенню печінкової тканини та середовища гомогенізації – 1:50. Отримані супернатанти зберігали за t +4°С не більше 2 діб.

Вивчення виділення пестициду з організму тварин здійснювали на щурах після одноразового перорального введення фурадану в дозі 5,0 мг/кг з подальшим утриманням їх у індивідуальних обмінних клітках, що давало змогу щодня окремо відбирати проби сечі та калу та досліджувати їх на вміст залишкових кількостей препарату та продуктів його біотрансформації.

У зв’язку з можливими отруєннями тварин цим пестицидом виникає необхідність контролю за залишковими кількостями карбофурану в усіх об’єктах тваринного та рослинного походження.

Значна частина продуктів тваринного походження піддається технологічній обробці, зокрема м’ясо. Саме тому необхідно було вивчити вплив способів технологічної обробки курячого м’яса на вміст залишкових кількостей карбофурану. Для цього були використані такі методи:

1) термічна обробка (проварювання) впродовж трьох годин;

2) вимочування в 9 % розчині оцтової кислоти впродовж 24 та 96 годин;

3) засолювання шляхом додавання 10 % кухонної солі (NaCl) відносно маси м’яса та води впродовж 24 та 96 годин.

Визначення залишків карбофурану та продуктів його біотрансформації проводили окремо в червоних та білих м’язах до та після обробки відповідними технологічними способами.

М’язова тканина була поділена на шматки масою 100 – 150 г, ретельно очищена від залишків жиру, шкіри та кісток. Біохімічні зміни курячого м’яса вивчали за загальноприйнятими методами. За цих умов визначали величину рН, активність пероксидази та ставили формольну реакцію у витяжках із поверхневих та глибоких шарів тазостегнових м’язів (Макаров В.А., 1987).

Динаміку розподілу залишкових кількостей карбофурану та його біотрансформацію в рослинних об’єктах вивчали впродовж усієї вегетації на соняшнику – *Helianthus annuus* (гібрид „Еней”) після обробки насіння хінуфуром 40 % в. с. (водна суспензія, д. р. карбофуран) у дозі 18 л/т, і на буряках – *Beta vulgaris:* кормовому – *Beta vulgaris pabularis* (гібрид Полтавський білий) та цукровому – *Beta vulgaris saccharifera* (гібрид Український, ЧС – 70) після обробки їх насіння фураданом 35 % т. пс. (текуча паста) у дозі 35 л/т.

Соняшник досліджували в такі фази його вегетації: через 38 діб після посіву (фаза росту рослини); через 70 діб (утворення суцвіття); через 100 діб (цвітіння) та через 135 діб (фаза визрівання). Потім виявляли залишки карбофурану в макусі з насіння соняшнику. Також визначали вміст залишкових кількостей пестициду в збірних пробах бур’янів (березка польова – *Convolvulus arvensis*, вівсюг – *Avena fatua*, щириця колосиста – *Amarantus retroflexus*, гірчиця польова – *Sinapis arvensis*, мокриця – *Stellaria media*, лобода – *Chenopodium album*, суріпиця – *Barbarea vulgaris* тощо) з посівів соняшнику, які відбирали на 70 та 100 доби досліду.

Кормовий буряк досліджували в такі фази його вегетації: через 7, 45, 77, 107 та 142 доби після посіву.

Цукровий буряк – у такі фази його вегетації: через 17, 55, 87, 117 та 152 доби після посіву. У подальшому досліджували кінцеві продукти переробки цукрового буряка: жом та патоку.

Результати токсикологічних і клініко-біохімічних досліджень наведені у відповідності з міжнародною системою одиниць, рекомендованою для використання в клінічній лабораторній практиці, та статистично оброблені за допомогою програми Microsoft Excel for Windows 2000.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

**Розробка методу визначення залишків карбофурану в об’єктах тваринного походження способом тонкошарової хроматографії.** Поширене використання фурадану в сільськогосподарській практиці нашої країни вимагає контролю за вмістом його залишкових кількостей у продуктах тваринництва, рільництва та для діагностики можливих отруєнь тварин цим пестицидом.

Експериментальні дослідження щодо розробки методики визначення залишкових кількостей карбофурану (фурадану) в об’єктах тваринного походження розпочали з оптимізації реагента-проявника. Для дослідження використовували стандартний розчин карбофурану в ацетоні (0,100 мг/см3) та пластинки „Силуфол” з АСК. На кожну пластинку крапельно мікрошприцем наносили по 10 мкг карбофурану. У подальшому, за допомогою збризкувача, пластинки обробляли різними реагентами-проявниками, а саме: 15 % розчином олова хлориду в хлористоводневій кислоті – карбофурану не виявлено; здійснювали двоступеневу обробку: спочатку 15 % спиртово-водним розчином калію гідроксиду з наступним підсушуванням пластинки впродовж 10 хвилин на повітрі. Потім пластинку обробляли одним з 0,02 % розчинів солей діазонію. Дослідження здійснювали, порівнюючи три солі діазонію – міцний синій Б, міцний червоний ГГ, міцний червоний В та з використанням двох розчинників до них – ацетону та етанолу.

Отримані результати свідчили про те, що всі розчини солей діазонію виявляють карбофуран. Однак індикація пестициду за допомогою розчинів солей діазонію в етанолі чіткіше відрізнялася за забарвленням плям, ніж ацетонова. Тло пластинки при обробці спиртовими розчинами залишалося практично білим. Препарат виявлявся у формі плям бузково-червоного кольору. Завдяки цьому підвищилася контрастність плям та відповідно чіткість виявлення пестициду. Установлено, що оптимальним реагентом-проявником є спиртовий розчин міцного червоного В. Карбофуран за цих умов виявлявся у формі плям бузкового кольору на світло-жовтому тлі пластинки.

Для визначення оптимального Rf карбофурану підбирали систему рухомої фази. За отриманими результатами, найкращою виявилася суміш бензол-етилацетату в співвідношенні 2:1 з довжиною пробігу 8 см, за використання якої Rf карбофурану становило 0,68.

Наступним етапом роботи було визначення оптимального розчинника для фурадану. Для цього були використані такі реагенти: хлороформ, ацетон, гексан, бензол, етилацетат, етанол, вода. Найкращі результати були отримані під час використання води, 50 та 95 % етанолу, хлороформу.

Для відпрацювання способу екстракції карбофурану використовували суміш 1 N розчину хлористоводневої кислоти та етанолу в різних співвідношеннях: 1) 10 см3 1 N HCl + 30 см3 етанолу; 2) 5 см3 1 N HCl + 35 см3 етанолу; 3) 10 см3 1 N HCl + 40 см3 етанолу. Досліджували контрольні зразки та проби печінки – 10 г, м’яса – 10 г, молока – 10 см3, яєчного жовтка – 5 г, жиру – 2 г.

Установлено, що найкращою кислотно-етанольною сумішшю для екстрагування досліджуваного пестициду є співвідношення 1:3 (10 см3 1 N HCl та 30 см3 етанолу). Ступінь екстрагування карбофурану за цих умов дорівнював 95 – 100 %.

Отриманий екстракт відділяли від залишків матриці шляхом фільтрації. Потім його обробляли в ділильній лійці гексаном, двічі по 10 см3, для вилучення коекстрактивних речовин. Кислотно-етанольні суміші, що залишилися після обробки гексаном, додатково реекстрагували хлороформом (30 см3). Отриманий хлороформний реекстракт випарювали до об’єму 0,2 – 0,3 см3.

Для відпрацювання додаткового очищення хлороформних реекстрактів було вирішено використовувати хроматографію на колонках із шарами алюмінію оксиду та силікагелю АСК. У них вносили відому кількість фурадану, розчиненого в хлороформі. Проводили підбір елюенту, при внесенні якого в невеликому об’ємі в колонку забезпечувалося повне елюювання досліджуваного препарату. Для цього використовували хлороформ та суміш гексан-ацетону в різних співвідношеннях – 9:1, 7:1, 5:1, 3:1 та 1:1. Установлено, що хлороформ не елюює карбофуран. Це дало змогу використовувати його для додаткового очищення колонки з внесеним препаратом. Після дослідження сумішей гексан – ацетону в різних співвідношеннях установлено, що максимальне елюювання (100 %) за найменшого об’єму внесення (3 см3) забезпечує співвідношення 1:1.

Отже, розроблена нами методика визначення залишкових кількостей карбофурану (фурадану) в біологічних об’єктах забезпечує повну його екстракцію з матриці, максимальне очищення отриманих екстрактів, а також розподіл пестициду та його метаболітів у тонкому шарі силікагелю з межею визначення в м’ясі, внутрішніх органах та жирі – 0,02, а в молоці та яйцях – 0,05 мг/кг.

**Валідація розробленого методу визначення залишкових кількостей карбофурану в об’єктах тваринного походження.** У процесі розробки методики необхідним є проведення її валідації, тобто визначення специфічності, чутливості, точності, лінійності та відтворюваності.

Саме тому була здійснена валідація розробленої методики визначення залишків карбофурану (фурадану) в об’єктах тваринного походження способом тонкошарової хроматографії. Установлено, що вона є специфічною, чутливою, точною, лінійною та відтворюваною.

Отже, розроблена методика відповідає вимогам стандарту ISO 17025 і “Європейській інструкції щодо застосування аналітичних методів та інтерпретації результатів ЄС 657/2002”. Новизна розробки захищена Патентом № 20031213293. На підставі цього ми розробили ”Методичні вказівки щодо визначення карбофурану (фурадану) в кормах і тканинах тваринного походження (м’ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця) способом тонкошарової хроматографії”, що затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, наказ № 53 від 30.06.2005 року.

**Параметри гострої токсичності та токсикокінетика фурадану (карбофурану) для щурів.** Перед постановкою основного досліду для визначення ЛД50 фурадану 35 % т. пс. (текуча паста), діюча речовина – карбофуран, за умов його перорального введення щурам був проведений попередній експеримент з урахуванням наявних даних літератури. Уведення фурадану в організм тварин здійснювали за допомогою спеціального зонду. На першому етапі досліду було сформовано шість груп тварин, яким уводили фурадан у дозах 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5 та 5,0 мг діючої речовини на один кілограм маси тіла. За цих умов жодна тварина не загинула. Тому був проведений наступний дослід. Для цього сформували ще сім груп щурів, яким уводили препарат у дозах 5,5; 6,0; 7,0; 7,5; 8,0; 8,5 та 9,0 мг/кг. У групах тварин, яким увели дози фурадану від 5,5 мг/кг до 8,0 мг/кг, усі щури вижили, а при введенні пестициду в дозах 8,5 мг/кг та 9,0 мг/кг тварини загинули. За отриманими результатами було сформовано шість дослідних груп по шість щурів у кожній. Фурадан уводили в дозах 8,0; 8,5; 9,5; 10,0; 12,0 і 18,0 мг/кг маси тіла.

Через 3 – 5 хвилин після введення пестициду в усіх щурів, починаючи з мінімальної дози, тобто 2,5 мг/кг, спостерігали клінічні симптоми отруєння: тремтіння м’язів, потовиділення, салівацію, мимовільні акти дефекації та сечовиділення, тахікардію, сукровичні виділення з носа та очей, екзофтальм, помутніння рогівки ока. Починаючи з дози 8,0 мг/кг, деякі із щурів приймали позу ”сидячого собаки”. Усі тварини відмовлялися від корму. У більшості з них спостерігався парез задніх кінцівок. Упродовж 2 – 3 годин тремтіння м’язів то посилювалось, то зменшувалось. Загибель піддослідних тварин за групами відзначалася здебільшого впродовж перших чотирьох годин після введення фурадану. У дослідних щурів, які залишилися живими, упродовж цього часу клінічні ознаки отруєння зникали.

Під час патологоанатомічного розтину трупів виявлено такі зміни: кровонаповнення печінки, нирок, селезінки, легень; останні рожево-червоного кольору, місцями з крововиливами; судини головного мозку, брижі, шлунка та кишок гіперемійовані; серце кровонаповнене з крововиливами.

Установлено, що величина ЛД50 фурадану для білих щурів за перорального введення становить 11,48±1,06 мг/кг (за діючою речовиною), ЛД16 – 7,81 мг/кг, ЛД84 – 15,15 мг/кг, а ЛД100 дорівнює 16,99 мг/кг.

Для визначення токсикокінетичних властивостей досліджуваного пестициду 20 щурам-самцям перорально вводили пестицид у дозі 5,0 мг/кг маси тіла. Через чотири години, одну, три, сім та чотирнадцять діб здійснювали декапітацію тварин й відбирали проби внутрішніх органів і тканин для визначення залишкових кількостей препарату та продуктів його біотрансформації. Максимальний вміст карбофурану через чотири години після введення було виявлено у вмістимому шлунка – 18,38±7,70 мг/кг, у ділянці товстої кишки з вмістимим – 9,50±7,20 мг/кг, а також у печінці – 0,12±0,02 мг/кг та селезінці – 0,10±0,01 мг/кг. Через 24 години максимальну концентрацію діючої речовини фурадану визначено в селезінці – 4,10±1,00 мг/кг, серці – 2,35±0,40 мг/кг, ділянці товстої кишки з вмістимим – 1,62±0,42 мг/кг. Не виявлено залишків пестициду в крові, нирках, сім’яниках та м’язах. При дослідженнях на третю, сьому та чотирнадцяту добу залишкових кількостей карбофурану в органах і тканинах не визначено (табл. 1).

Таблиця 1

**Розподіл карбофурану (мг/кг) в органах і тканинах щурів-самців**

**за умов одноразового перорального введення фурадану**

**в дозі 5,0 мг/кг маси тіла (M±m, n=4)**

|  |  |
| --- | --- |
| Досліджувані об’єкти  | Терміни дослідження, через |
| години | доби |
| 4 | 24 | 3, 7 та 14 |
| кров | < м. в. | < м. в. | < м. в. |
| мозок | < м. в. | 1,00±0,40 | < м. в. |
| серце | < м. в. | 2,35±0,40 | < м. в. |
| легені | 0,05\* | 1,30±0,08 | < м. в. |
| селезінка | 0,10±0,01 | 4,10±1,00 | < м. в. |
| нирки | < м. в. | < м. в. | < м. в. |
| печінка | 0,12±0,02 | < м. в. | < м. в. |
| сім’яники | < м. в. | < м. в. | < м. в. |
| жир | 0,15\* | < м. в. | < м. в. |
| м’язи | < м. в. | < м. в. | < м. в. |
| вмістиме шлунка | 18,38±7,70 | 0,11±0,01 | < м. в. |
| ділянка тонкої кишки з вмістимим | 0,93\* | < м. в. | < м. в. |
| ділянка товстої кишкиз вмістимим | 9,50±7,20 | 1,62±0,42 | < м. в. |

 Примітки:

 1. < м. в. – менше межі визначення методу (0,02 мг/кг);

 2. \* – виявлено в одній пробі з чотирьох, що досліджувалися.

Під час ідентифікації фурадану на хроматографічних пластинках також проявлялися плями подібні за кольором до плям пестициду, але з іншим Rf. Тому ці сполуки ми віднесли до продуктів його біотрансформації та назвали метаболіт № 1, № 2, № 3 і № 4 (у порядку величини Rf).

Після першого дослідження, тобто через чотири години, виявлено три метаболіти карбофурану: № 1, № 3 і № 4. Максимальний вміст усіх трьох метаболітів визначено в ділянці товстої кишки з вмістимим. Слід зазначити, що залишкові кількості метаболіту № 1 були виявлені в усіх органах і тканинах, окрім мозку та сім’яників. Метаболіт № 3 був визначений у всіх органах і тканинах, окрім крові та вмістимого шлунка. Що стосується метаболіту № 4, то його було виявлено лише в печінці – 0,10 мг/кг та ділянці товстої кишки з вмістимим – 14,40 мг/кг.

На першу добу дослідження ми виявили два метаболіти карбофурану: метаболіт № 1 і № 2. Метаболіт № 1 визначено тільки у вмістимому травного каналу. Максимальні концентрації метаболіту № 2 визначені в мозку – 1,90 мг/кг та жирі – 1,02 мг/кг. Через три доби після введення розчину фурадану в усіх органах і тканинах щурів, окрім серця, було виявлено лише метаболіт № 3. У процесі проведення експерименту на сьому та чотирнадцяту добу дослідження залишкових кількостей продуктів біотрансформації карбофурану не визначено.

Окрім вивчення розподілу карбофурану в органах і тканинах щурів, досліджували його виділення з організму. Установлено, що пестицид виділяється тільки з каловими масами на першу – 1,58 мг/кг та четверту – 0,05 мг/кг доби дослідження, також виділяються три метаболіти карбофурану: № 1, № 2 та № 4. У сечі було визначено лише метаболіти № 1 і № 4.

Отже, отримані результати щодо виділення та перерозподілу карбофурану і його метаболітів у організмі щурів свідчать про відсутність кумуляції пестициду. Установлено, що він швидко всмоктується з травного каналу, піддається біотрансформації та розподіляється в органах і тканинах щурів. Основна кількість карбофурану та продуктів його біотрансформації виводиться з організму щурів з каловими масами впродовж чотирьох діб після введення фурадану.

**Гостра токсичність фурадану для курей. Токсикокінетичні властивості фурадану в організмі курей за умов його одноразового перорального введення.** Для вивчення токсикокінетичних властивостей фурадану (карбофурану) було сформовано три групи тварин. Контрольна, якій перорально вводили воду, і дві дослідні: першій групі застосовували пестицид у дозі 2,5 мг/кг маси тіла, другій – 5,0 мг/кг.

Через 5 – 7 хвилин після перорального введення карбофурану курям спостерігали скреготіння та чистячі рухи дзьобом об підлогу, важке дихання при постійно відкритому дзьобі, мотання головою, мимовільне виділення екскрементів. Через одну годину була відсутня акомодація очей.

Залишкові кількості карбофурану були виявлені в органах і тканинах курей через чотири години та одну добу після введення пестициду. На третю та сьому доби проведення експерименту проби органів і тканин, що досліджувалися, були збірними, окрім вмістимого товстої кишки та шлунка. У ці строки досліджень залишкових кількостей карбофурану не виявлено (табл. 2).

Через чотири години максимальні концентрації пестициду в курей першої дослідної групи були виявлені у вмістимому товстої кишки – 1,64 мг/кг та жирі – 0,99 мг/кг. У курей другої дослідної групи максимальні залишки були визначені в селезінці – 1,92 мг/кг, жирі – 1,69 мг/кг та вмістимому товстої кишки – 1,55 мг/кг. У вмістимому шлунка курей обох дослідних груп залишкових кількостей карбофурану не виявлено.

Найменші залишкові кількості діючої речовини пестициду в першій дослідній групі (доза 2,5 мг/кг) визначені в крові – 0,05 мг/кг, білих – 0,05 мг/кг та червоних м’язах – 0,06 мг/кг. У курей другої дослідної групи (доза 5,0 мг/кг) у крові залишків карбофурану не виявлено, а в білих м’язах вони дорівнювали 0,06 мг/кг, червоних – 0,05 мг/кг. Через одну добу після введення карбофурану птиці залишкові кількості його були виявлені лише в м’язових тканинах: у першій групі в білих – 0,04 мг/кг, а в другій групі – у червоних – 0,03 мг/кг та білих – 0,05 мг/кг.

Таблиця 2

**Розподіл залишкових кількостей карбофурану (мг/кг) в органах і тканинах курей за умов одноразового перорального введення фурадану**

**в дозах 2,5 та 5,0 мг/кг маси тіла (М±m, n=4)**

|  |  |
| --- | --- |
| Досліджувані об’єкти | Строки досліду |
| 4 години | доби |
| 1  | 3 та 7  |
| Доза введеного фурадану по групах, мг/кг  |
| 2,5 | 5,0 | 2,5 | 5,0 | 2,5 | 5,0 |
| кров | 0,05±0,005 | < м. в. | < м. в. | < м. в. | < м. в. | < м. в. |
| мозок | 0,14±0,008 | 0,17±0,03 | < м. в. | < м. в. | < м. в. | < м. в. |
| серце | 0,11±0,007 | 0,14±0,02 | < м. в. | < м. в. | < м. в. | < м. в. |
| легені | 0,19±0,03 | 0,37±0,02 | < м. в. | < м. в. | < м. в. | < м. в. |
| селезінка | 0,39±0,04 | 1,92±0,14 | < м. в. | < м. в. | < м. в. | < м. в. |
| нирки | 0,09±0,01 | 0,42±0,06 | < м. в. | < м. в. | < м. в. | < м. в. |
| жир | 0,99±0,10 | 1,69±0,33 | < м. в. | < м. в. | < м. в. | < м. в. |
| печінка | 0,32±0,03 | 0,43±0,01 | < м. в. | < м. в. | < м. в. | < м. в. |
| червоні м’язи | 0,06±0,004 | 0,05±0,005 | < м. в. | 0,03±0,00 | < м. в. | < м. в. |
| білі м’язи | 0,05±0,004 | 0,06±0,004 | 0,04±0,007 | 0,05±0,003 | < м. в. | < м. в. |
| вмістиме товстої кишки | 1,64±0,10 | 1,55±0,31 | < м. в. | < м. в. | < м. в. | < м. в. |
| вмістиме шлунка | < м. в. | < м. в. | < м. в. | < м. в. | < м. в. | < м. в. |

Примітка. < м. в. – менше межі визначення методу (0,02 мг/кг)

Упродовж проведення цього досліду в тканинах, що досліджувались, окрім самого препарату, були визначені два метаболіти карбофурану: № 1 та № 2. Залишкові кількості цих метаболітів були виявлені в різних кількостях через чотири години, одну та три доби після введення. Проте на сьому добу досліду вказаних продуктів біотрансформації карбофурану в жодній з досліджуваних тканин уже не було виявлено.

Через чотири години обидва метаболіти в обох дослідних групах були визначені у вмістимому шлунка та товстої кишки, легенях і червоних м’язах, а через одну та три доби – лише у вмістимому товстої кишки.

Отже, у процесі вивчення токсикокінетичних властивостей фурадану в організмі курей за умов одноразового перорального введення встановлено, що він швидко всмоктується з травного каналу та розподіляється в усіх органах і тканинах курей. Це підтверджується визначенням залишкових кількостей карбофурану через чотири години після введення в усіх досліджуваних об’єктах, крім вмістимого шлунка. Виявлені продукти біотрансформації карбофурану – метаболіти № 1 та № 2, які розподілялися в усіх органах і тканинах курей обох дослідних груп, починаючи з першого строку дослідження – чотири години – також підтверджують швидку біотрансформацію карбофурану в організмі птиці.

**Оцінка впливу фурадану на функціональний стан печінки курей за умов його одноразового перорального введення**. Під час вивчення впливу фурадану на організм курей після одноразового перорального введення ми встановили певні гематологічні та біохімічні зміни, які мали дозозалежний характер.

За результатами здійснених досліджень установлено еритропенію на перших строках проведення досліду (через чотири години та одну добу). У процесі дослідження вмісту гемоглобіну в крові курей обох дослідних груп відзначали статистично вірогідне збільшення його впродовж усього експерименту. Достовірну гіпербілірубінемію встановили в усі строки досліду, крім останнього (через сім діб після введення фурадану), коли відзначалася лише тенденція до підвищення концентрації білірубіну. Під час визначення протромбінового часу через чотири години та одну добу встановлено статистично вірогідне його збільшення, порівняно з контролем, на 40 та 38 % і 46 та 31 % у першій і другій дослідних групах відповідно. Через три та сім діб після введення пестициду, що досліджувався, у плазмі крові курей обох дослідних груп протромбіновий час вірогідно не відрізнявся від контролю. Достовірне зниження вмісту загального білка відзначали через чотири години, одну та три доби від початку досліду. На сьому добу проведення експерименту концентрація загального білка не відрізнялася від контролю. Зміни протеїнограми сироватки крові курей обох дослідних груп свідчили про порушення білоксинтезуючої функції печінки, а також указували на наявність ознак гострого запального процесу. Одержані результати колоїдо-осадових проб (Вельтмана та тимолової) відповідали результатам визначення вмісту загального білка та протеїнограми стосовно наявності запальних процесів у організмі дослідної птиці.

Установлено вірогідне підвищення активності індикаторних ферментів – АсАТ і АлАТ, а також ЛДГ та ЛФ і пригнічення активності ХЕ в сироватці крові курей обох дослідних груп. У тканині печінки було встановлено пригнічення активності АсАТ, АлАТ, ЛДГ та ХЕ і підвищення активності ЛФ. Ці зміни виявлялися на ранніх строках інтоксикації (через чотири години, одну та три доби після введення фурадану курям).

Отже, на початку досліду – через чотири години після введення фурадану птиці відзначали ознаки запалення та порушення білоксинтезуючої функції печінки, про що свідчили зміни таких біохімічних показників: зниження вмісту загального білка, гіпоальбумінемія, порушення в співвідношенні білкових фракцій та дані колоїдо-осадових проб; цитолітичного синдрому – гіпербілірубінемія, підвищення активності АлАТ, АсАТ та ЛДГ; гепатоцелюлярної недостатності (гепатодепресивного синдрому) – гіпоальбумінемія, збільшення протромбінового часу та пригнічення активності ХЕ в обох дослідних групах, і вони були більш вираженими в курей другої дослідної групи (доза 5,0 мг/кг).

На першу добу досліду встановлена стабілізація ступеня прояву гепатодепресивного синдрому разом з більш вираженими ознаками запалення в організмі тварин та синдрому цитолізу порівняно з попереднім строком дослідження. Також відзначена поява певних ознак синдрому холестазу за рахунок гіпербілірубінемії та підвищення активності ЛФ.

Через три доби від початку досліду синдром цитолізу був менш вираженим, за винятком активності ЛДГ, яка підвищувалася в цей період. Ознак синдрому запалення не відзначено. Гепатодепресивний синдром був неоднорідним і характеризувався зниженням синтезу альбумінів та стабільним рівнем активності ХЕ. Синдром холестазу в цей період був різко вираженим як за рахунок підвищення активності ЛФ, так і гіпербілірубінемії.

На сьому добу експерименту залишалася підвищеною лише активність АлАТ у сироватці крові та були відзначені зміни в співвідношенні білкових фракцій на фоні нормалізації вмісту загального білка.

Отже, під впливом одноразового перорального введення фурадану в дозі 2,5 та 5,0 мг/кг маси тіла в організмі курей відзначаються такі синдроми ушкодження печінки: запалення та порушення білоксинтезуючої функції, гепатоцелюлярної недостатності, цитолізу й холестазу, які характеризуються гіпопротеїнемією, гіпоальбумінемією, гіпербілірубінемією, збільшенням протромбінового часу, підвищенням активності індикаторних ферментів – АсАТ і АлАТ, а також ЛДГ та ЛФ і пригніченням активності ХЕ в сироватці крові.

**Вплив технологічної обробки курячого м’яса на вміст залишкових кількостей карбофурану.** Під час початкового визначення залишкових кількостей пестициду (до технологічної обробки м’язових тканин) у червоних м’язах виявлено карбофуран та два його метаболіти: № 1 і № 2. У білих м’язах визначено карбофуран і метаболіт № 1. Після технологічної обробки м’яса в обох досліджуваних зразках тканин виявлено лише продукти біотрансформації карбофурану, тоді як залишків самого пестициду не визначено.

Після проварювання впродовж трьох годин у червоних і білих м’язах виявлені залишкові кількості метаболіту № 2. У бульйонах, що отримали після проварювання зразків м’яса, визначено лише метаболіт № 1.

Після обробки м’язових тканин 9 % розчином оцтової кислоти впродовж 24 годин у червоних м’язах виявлені залишки лише метаболіту № 1, вміст якого зменшився у 1,5 рази порівняно з початковим. В оцтово-м’язовому екстракті цієї тканини визначені залишкові кількості метаболітів № 1 та № 2. У білих м’язах виявлено метаболіт № 2, концентрація якого становила 0,08 мг/кг. Під час дослідження оцтово-м’язового екстракту білих м’язів ми виявили залишки метаболіту № 1. У процесі подальшого дослідження, через 96 годин, вміст виявленого в червоних м’язах метаболіту № 1 дещо зменшився, а залишкові кількості метаболітів № 1 і № 2 в оцтово-м’язовому екстракті залишилися практично незмінними. У білих м’язах визначено метаболіт № 1 у концентрації 0,05 мг/кг. Цей продукт біотрансформації карбофурану залишився майже незмінним у оцтово-м’язовому екстракті та дорівнював 0,04 мг/кг.

Після обробки м’язових тканин методом змішаного засолювання в червоних і білих м’язах через 24 та 96 годин були виявлені залишки метаболітів № 1 та № 2. Упродовж досліду їх вміст зменшувався. Що стосується м’язово-сольового екстракту червоних м’язів, то через 24 та 96 годин у ньому виявлені залишкові кількості обох метаболітів: № 1 та № 2, вміст яких упродовж досліду практично не змінювався. Через 24 години в м’язово-сольовому екстракті білих м’язів були визначені залишки метаболіту № 1 у концентрації 0,05 мг/кг. Через 96 годин у ньому було виявлено як метаболіт № 1, так і метаболіт № 2.

Отже, під впливом технологічної обробки (проварювання, вимочування та засолювання) курячого м’яса із залишковими кількостями карбофурану відбувалося перетворення пестициду до метаболітів № 1 та № 2, вміст яких поступово зменшувався в м’ясі та екстрактах м’язових витяжок, проте повного руйнування їх не встановлено. Залишкових кількостей самого карбофурану в обробленому м’ясі не виявлено.

**Розподіл залишкових кількостей карбофурану та продуктів його біотрансформації в деяких об’єктах довкілля у виробничих умовах.** Ураховуючи недостатність вивчення питань стосовно розподілу залишкових кількостей карбофурану та продуктів його біотрансформації в об’єктах довкілля, ми здійснили дослідження на соняшнику, кормовому та цукровому буряках після обробки їх насіння протруйниками з діючою речовиною карбофуран (хінуфуром або фураданом) у виробничих умовах.

У процесі дослідження залишків пестициду в ґрунті з-під посівів рослин упродовж їх вегетації карбофуран було виявлено протягом усього експерименту та визначено в ґрунті навіть після збирання врожаю. На 38 та 70 доби дослідження ґрунту з-під посівів соняшнику, на 45 і 77 доби – кормового буряка та на 55 і 87 доби – цукрового буряка залишкові кількості карбофурану значно знижуються, а за подальших строків дослідження починають дещо зростати.

Крім цього, за всіх строків дослідження визначені п’ять метаболітів карбофурану, що свідчить про високу біологічну активність ґрунту, яка сприяє інтенсивній біотрансформації пестициду.

Одержані результати стосовно виявлення карбофурану та продуктів його біотрансформації в насінні соняшнику перед збиранням урожаю, а також у коренеплодах цукрового буряка наприкінці досліду спонукали до продовження експерименту для визначення залишкових кількостей пестициду в об’єктах переробки досліджуваних рослин, що йдуть на корм. За результатами досліджень виявлені залишкові кількості карбофурану в продуктах переробки досліджуваних рослин: у макусі, жомі та патоці.

Великий вміст метаболітів, виявлених у соняшнику, кормовому та цукровому буряках, свідчить про швидку біотрансформацію карбофурану під впливом інтенсивних процесів обміну в цих рослинах.

Під час дослідження збірних проб бур’янів з посівів соняшнику на 70 добу досліду визначені залишкові кількості метаболітів № 4 та № 5. Інтенсивна біотрансформація карбофурану, на нашу думку, може бути пов’язана з тим, що в бур’янах процеси обміну у вегетаційний період відбуваються значно швидше, ніж у культурних рослинах, тому що досліджувані бур’яни є ефемерами, повна вегетація яких відбувається впродовж одного – двох місяців. На 100 добу досліду в пробах бур’янів з посівів соняшнику визначені залишки карбофурану та метаболіту № 4.

Отже, залишкові кількості карбофурану та продуктів його біотрансформації визначаються в продуктах переробки рослин, насіння яких перед висівом оброблялося протруйниками із зазначеною вище діючою речовиною та в ґрунті з-під посівів навіть після збирання врожаю.

**ВИСНОВКИ**

1. У дисертації наведено результати токсикологічних та клініко-біохімічних досліджень, розроблено методику визначення залишкових кількостей карбофурану в кормах і тканинах тваринного походження, встановлено параметри гострої токсичності фурадану (карбофурану) для щурів, вивчено токсикокінетику пестициду в організмі щурів і курей, вплив фурадану на функціональний стан печінки птиці та досліджені особливості персистенції карбофурану в об’єктах довкілля після обробки насіння соняшнику, кормового та цукрового буряків упродовж їх вегетації у виробничих умовах. Результати досліджень мають теоретичне й практичне значення та захищені патентом України на винахід і впроваджені в практику ветеринарної медицини.

2. Розроблено методику визначення залишкових кількостей карбофурану (фурадану) в кормах і тканинах тваринного походження (м’ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця) способом тонкошарової хроматографії, яка має межу детектування 0,2 мкг та повноту виявлення 91,76 %. Здійснено валідацію розробленої методики згідно з вимогами стандарту ISO 17025 і “Європейської інструкції щодо застосування аналітичних методів та інтерпретації результатів ЄС 657/2002”.

3. Установлено, що ЛД50 фурадану для білих щурів-самців за перорального введення становить 11,48±1,06 мг/кг (за діючою речовиною), ЛД16 – 7,81 мг/кг та ЛД84 – 15,15 мг/кг.

4. Основними клінічними симптомами гострого отруєння щурів фураданом є тремтіння м’язів, потовиділення, салівація, мимовільні акти дефекації та сечовиділення, тахікардія, сукровичні виділення з носа та очей, екзофтальм, помутніння рогівки ока, тимчасовий парез задніх кінцівок.

У курей основними клінічними ознаками гострого отруєння фураданом є скреготіння та чистячі рухи дзьобом об підлогу, важке дихання при постійно відкритому дзьобі, мотання головою, мимовільне виділення екскрементів, відсутність акомодації очей. Загибель тварин відбувається впродовж перших чотирьох годин після введення пестициду.

5. Фурадан у організмі щурів за умов одноразового перорального введення в дозі 5,0 мг/кг маси тіла швидко всмоктується з травного каналу, піддається біотрансформації та розподіляється в усі органи й тканини за відсутності кумуляції. Максимальні концентрації карбофурану через чотири години після його введення виявлені у вмістимому шлунка та ділянці товстої кишки з вмістимим. Продукти біотрансформації карбофурану – чотири метаболіти – визначено в усіх органах і тканинах упродовж трьох діб від початку експерименту. Залишкові кількості фурадану не були виявлені на третю добу досліду, а метаболіти – на сьому та чотирнадцяту. Залишків карбофурану в крові, нирках, сім’яниках та м’язах не визначено. Основна кількість пестициду та продуктів його біотрансформації виводиться з організму щурів з каловими масами впродовж чотирьох діб після введення.

6. В організмі курей фурадан швидко всмоктується, піддається біотрансформації та розподіляється в усіх органах і тканинах. Через чотири години після введення пестициду залишкові кількості його виявлено в усіх об’єктах дослідження, окрім вмістимого шлунка. Найбільшу концентрацію карбофурану визначено у вмістимому товстої кишки, жирі та селезінці курей. Через одну добу залишкові кількості карбофурану виявлені лише в червоних та білих м’язах. Окрім карбофурану визначено продукти його біотрансформації – метаболіти № 1 та № 2, які розподіляються в органах і тканинах та виявлені впродовж трьох діб від початку експерименту.

7. Під впливом фурадану за умов одноразового перорального введення в дозах 2,5 та 5,0 мг/кг маси тіла в організмі курей відзначали синдроми ушкодження печінки: запалення та порушення білоксинтезуючої функції, гепатоцелюлярної недостатності, цитолізу та холестазу, які характеризувалися гіпопротеїнемією, гіпоальбумінемією, гіпербілірубінемією, збільшенням протромбінового часу, підвищенням активності індикаторних ферментів – АсАТ і АлАТ, а також ЛДГ та ЛФ і пригніченням активності ХЕ в сироватці крові. У тканині печінки було встановлено пригнічення активності АсАТ, АлАТ, ЛДГ та ХЕ і підвищення активності ЛФ. Ці зміни були встановлені на ранніх строках інтоксикації (через чотири години, одну та три доби після введення пестициду). На сьому добу досліду ступінь порушень з боку вказаних показників починає знижуватися.

8. Під впливом технологічної обробки (проварювання, вимочування та засолювання) курячого м’яса із залишковими кількостями карбофурану відбувається біотрансформація пестициду до метаболітів № 1 та № 2, концентрація яких поступово зменшується як у м’ясі, так і в екстрактах м’язових витяжок, але повного руйнування їх не встановлено. Проте залишкових кількостей самого карбофурану в обробленому м’ясі не виявлено.

9. Після обробки насіння соняшнику, кормового та цукрового буряків протруйниками з діючою речовиною карбофуран (хінуфуром або фураданом) залишкові кількості пестициду визначені на всіх строках вегетації рослин, а також у ґрунті з-під посівів, навіть після збирання врожаю. У досліджуваних об’єктах виявлені п’ять метаболітів карбофурану. Залишкові кількості карбофурану визначені в продуктах переробки досліджуваних рослин: у макусі, жомі та патоці.

**ПРОПОЗИЦІЇ ДЛЯ ПРАКТИКИ**

1. ”Методичні вказівки щодо визначення карбофурану (фурадану) в кормах і тканинах тваринного походження (м’ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця) способом тонкошарової хроматографії”, затверджені Державним департаментом ветмедицини Міністерства аграрної політики України. Наказ № 53 від 30 червня 2005 р.

2. Для зажиттєвої діагностики отруєнь тварин фураданом слід досліджувати залишкові кількості пестициду та його метаболітів у сечі та калових масах, а за посмертної – у вмістимому шлунка й товстої кишки, а також у жирі та селезінці.

3. Ураховуючи наявність залишків карбофурану в м’ясі, навіть після технологічних обробок, необхідно здійснювати утилізацію туш, не допускаючи згодовування їх тваринам.

4. Результати досліджень пропонуємо включати в навчальний процес під час викладання дисципліни “Ветеринарна токсикологія” для студентів вищих навчальних закладів ветеринарної медицини.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Пащук Ю.Г. Розробка методу тонкошарової хроматографії для визначення залишків карбофурану // Вет. медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2004. – Вип. 83. – С. 177–181.

2. Пащук Ю.Г. Характеристика деяких валідаційних параметрів щодо методу тонкошарової хроматографії для визначення залишків карбофурану // Вет. медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2004. – Вип. 84. – С. 554–562.

3. Малинін О.О., Куцан О.Т., **Пащук Ю.Г.** Динаміка розподілу залишкових кількостей карбофурану та його трансформація у соняшнику після обробки насіння хінуфуром // Вет. медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2005. – Вип. 85. – Т. 1. – С. 738–744. *(Дисертант брав участь у розробці схеми досліду, провів експериментальні дослідження, проаналізував, статистично обробив отримані результати).*

4. Малинін О.О., Куцан О.Т., **Пащук Ю.Г.** Токсикологічний моніторинг залишків карбофурану та продуктів його трансформації в деяких кормових культурах // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету. – Біла Церква, 2005. – Вип. 33. – С. 165–173. *(Дисертант брав участь у розробці схеми досліду, провів експериментальні дослідження, проаналізував і статистично обробив отримані результати).*

5. Патент 72166 А Україна, 7 G01N30/00. Спосіб визначення карбофурану (фурадану) в біологічних об’єктах / **Ю.Г. Пащук**, О.О. Малинін, О.Т. Куцан (Україна). – № 20031213293; Заявлено 31.12.2003; Опубл. 17.01.2005, Бюл. 1. – 3 с. *(Здобувач провів експериментальні дослідження та оформив заявку на патент).*

**Пащук Юлія Григорівна. Токсикологічна та санітарно-гігієнічна характеристика фурадану (карбофурану). – Рукопис.**

*Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.04 – ветеринарна фармакологія та токсикологія. – ННЦ ”Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини”, Харків, 2006.*

Розроблена та валідована методика визначення карбофурану (фурадану) в кормах та продукції тваринного походження способом тонкошарової хроматографії з межею визначення 0,02 мг/кг.

Встановлено, що карбофуран швидко всмоктується, біотрансформується до метаболітів та розподіляється в органах і тканинах тварин. За цих умов у організмі курей спостерігається гіпопротеїнемія, гіпоальбумінемія, гіпербілірубінемія, збільшення протромбінового часу, підвищення активності індикаторних ферментів – АсАТ і АлАТ, а також ЛДГ та ЛФ і пригнічення активності ХЕ у сироватці крові. У тканині печінки було встановлено пригнічення активності АсАТ, АлАТ, ЛДГ та ХЕ і підвищення активності ЛФ.

Після обробки насіння соняшнику, кормового та цукрового буряків протруйниками з діючою речовиною карбофуран у процесі їх вегетації виявлені залишкові кількості пестициду та його метаболітів за всіх строків проведення експерименту, в усіх об’єктах, що досліджували, зокрема в ґрунті з-під посівів, навіть після збирання врожаю. Залишкові кількості карбофурану виявлені також у продуктах переробки досліджуваних рослин: у макусі, жомі й патоці.

**Ключові слова:** фурадан, карбофуран, залишкові кількості, тонкошарова хроматографія, токсикокінетика, токсикодинаміка, персистенція в довкіллі.

**Пащук Юлия Григорьевна. Токсикологическая и санитарно-гигиеническая характеристика фурадана (карбофурана). – Рукопись.**

*Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.04 – ветеринарная фармакология и токсикология. ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», Харьков, 2006.*

Разработана методика определения карбофурана (фурадана) в кормах и продуктах животного происхождения способом тонкослойной хроматографии с пределом обнаружения – 0,02 мг/кг. Установлены валидационные характеристики данной методики согласно требованиям стандарта ІSO 17025.

Определены параметры острой токсичности фурадана для белых крыс (самцов) при пероральном введении: ЛД50 – 11,48±1,06 мг/кг, ЛД16 – 7,81 мг/кг и ЛД84 – 15,15 мг/кг. Исходя из полученных данных, фурадан 35 % с действующим веществом карбофуран относится к особо опасным веществам по классификации ВОЗ.

При изучении токсикокинетических свойств фурадана на самцах белых крыс и курах при однократном пероральном введении было установлено, что он быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта и распределяется по органам и тканям животных. При этом происходит его биотрансформация на четыре метаболита. Остаточные количества карбофурана и его метаболитов не обнаруживались на седьмые сутки после введения.

Выделение максимального количества карбофурана и продуктов его биотрансформации происходит с фекалиями в первые сутки проведения эксперимента, а в моче – на вторые. Основное количество пестицида и продуктов его биотрансформации выводится из организма крыс с фекалиями в течение четырех суток после введения животным фурадана.

Установлено, что после однократного перорального введення фурадана в дозах 2,5 и 5,0 мг/кг у кур обнаружены признаки некоторых синдромов патологии печени. При этом определен дозозависимый характер влияния пестицида. Наблюдали гипопротеинемию, гипоальбуминемию, гипербилирубинемию, удлинение протромбинового времени, повышение уровня активности индикаторных ферментов – АсАТ и АлАТ, ЛДГ и ЩФ, угнетение активности ХЭ в сыворотке крови. В ткани печени установлено угнетение активности АсАТ, АлАТ, ЛДГ и ХЭ и повышение активности ЩФ. Эти изменения наблюдаются на ранних сроках интоксикации (через 4 часа, одни и трое суток после введения пестицида). На седьмые сутки эксперимента оставалась повышенной активность АлАТ в сыворотке крови и изменения протеинограммы при нормализации уровня общего белка.

Доказано, что под воздействием технологической обработки мяса, которое содержит остаточные количества карбофурана, происходит биотрансформация пестицида до двух метаболитов.

Установлено, что после обработки семян подсолнечника, кормовой и сахарной свеклы протравителями с действующим веществом карбофуран (хинуфуром или фураданом) в процессе их вегетации обнаружены остаточные количества пестицида на всех сроках эксперимента. Остаточные количества карбофурана остаются в почве из-под посевов даже в конце эксперимента, т.е. после уборки урожая. В опытных объектах обнаружено пять метаболитов карбофурана. При исследовании сборных проб сорняков с посевов подсолнечника выявлены остаточные количества карбофурана и продуктов его биотрансформации. Остатки карбофурана обнаружены также в продуктах переработки исследуемых растений: макухе, жоме и патоке.

**Ключевые слова:** фурадан, карбофуран, остаточные количества, тонкослойная хроматография, токсикокинетика, токсикодинамика, персистенция в окружающей среде.

**Paschuk Julia Grygorivna. Toxicological and hygiene and sanitary characteristics of furadan (carbofuran). – Manuscript.**

*Thesis for scientific degree of the candidate of veterinary sciences on speciality 16.00.04 – veterinary pharmacology and toxicology. NSC “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkov, 2006.*

Method of carbofuran determination in feeds and products of animal origin using method of thin-layer chromatography with limit of determination – 0.02 mg/kg were developed and validated.

There was determined that carbofuran absorbs rapidly, biotransforms to metabolite and disposes to all organs and tissues of the animal organism.

At that hypoproteinemia, hypoalbunemia, hyperbilirubinemia, increase of prothrombin’s time, growth of indicated ferments activity – AST and ALT, and also LDH and ALP and oppression of ChE activity in blood serum is observed in chicken organism. In liver tissue there was determined oppression of AST, ALT, LDH and ChE activity and increase of ALP activity.

There was determined that after processing of plant seeds: sunflower, mangel and sugar-beet with pretreat with active substance – carbofuran, during their vegetative growth there were revealed residual quantities of investigated pesticide and its metabolites in all terms of the experiment, in all objects, which were investigated, including soil after harvesting. Residual quantities of carbofuran were also revealed in processing products from investigated plants: cake, pulp and molasses.

**Key words**: furadan, carbofuran, residues, thin-layer chromatography, toxicokinetics, toxicodynamics, persistence in environment.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>