

УТВЕРЖДАЮ  
Главный государственный санитарный  
врач Российской Федерации  
Г. Г. Онищенко  
15 октября 1998 г.  
МУ 2.1.5.720—98  
Дата введения: с момента утверждения

## 2.1.5. ВОДООТВЕДЕНИЕ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ, САНИТАРНАЯ ОХРАНА ВОДОЕМОВ

### **Обоснование гигиенических нормативов химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования**

#### **Методические указания**

#### **МУ 2.1.5.720—98**

1. Методические указания подготовлены под руководством д.м.н. Г. Н. Красовского и д.м.н. З. И. Жолдаковой коллективом авторов: к. м. н. Н. А. Егоровой, д.м.н. З. И. Жолдаковой, к.м.н. О. О. Симициной, к.х.н. Н. В. Харчевиковой (НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А. Н. Сысина РАМН).

2. Утверждены и введены в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 15 октября 1998 года.

#### **Введение**

Настоящие методические указания являются вторым переработанным и дополненным изданием «Методических указаний по разработке и научному обоснованию предельно допустимых концентрации вредных веществ в воде водоемов» и подготовлены взамен указанного документа, который был издан в 1976 г. и не переиздавался. За этот период накоплены новые данные о взаимодействии веществ и организма, веществ и водной среды, в таких аспектах как:

- закономерности развития токсического процесса «доза-время-эффект»;
  - количественные зависимости «химическая структура - токсичность»;
  - соотношение общетоксических и специфических, в т. ч. отдаленных эффектов;
  - особенности проявления материальной и функциональной кумуляции от режима воздействия;
  - зависимость стабильности и трансформации веществ от влияния физических, химических и биологических факторов;
  - количественные соотношения между пороговыми дозами и концентрациями веществ по трем признакам вредности: органолептическому, общесанитарному и токсикологическому.
- Обобщение этих материалов нашло отражение в новых критериях, принципах и методах нормирования, на основании которых:
- разработана гигиеническая классификация опасности веществ, загрязняющих воду;
  - обоснованы методы изучения и новая классификация стабильности и трансформации веществ в воде;
  - создана система методов прогноза токсичности и опасности веществ; определены значимость, условия и ограничения использования результатов экспресс-экспериментов для расчета параметров хронической токсичности;
  - систематизированы критерии установления пороговой дозы в подостром эксперименте ( $ПД_{пэк}$  или  $Lim_{subac}$ ) и при хроническом воздействии ( $ПД_{хр.}$  или  $Lim_{chr}$ );
  - установлены дифференцированные коэффициенты перехода от  $ПД_{хр.}$  к МНД;
  - предложен алгоритм оценки способности веществ к кумуляции;
  - усовершенствованы методы изучения способности веществ вызывать специфические, в т.

ч. отдаленные эффекты;

- уточнены методы определения пороговых концентраций по органолептическому и общесанитарному признакам вредности (ПК<sub>орг</sub> и ПК<sub>сан.</sub>);
- определены особенности обоснования нормативов в воде в зависимости от области применения веществ;
- введены в законодательство новые виды нормативов - ОДУ и региональные нормативы;
- внедрена концепция комплексного нормирования с учетом ДСД и рекомендовано использовать ДСД при установлении региональных нормативов;
- разработаны методы установления ПДК и ОДУ для смесей постоянного состава;
- созданы отечественные базы данных о токсичности и опасности веществ, получена возможность использования зарубежной информации (в частности, по системе Internet), что позволяет перейти от получения эмпирических данных к планированию исследований на основе имеющихся данных о близких по свойствам и строению веществах.

Полученные новые данные позволили разработать систему последовательного (этапного) обоснования гигиенических нормативов веществ в водных объектах, которая положена в основу данного методического документа.

Настоящие методические указания предназначены для специалистов учреждений медицинского профиля, аккредитованных на право проведения исследований по обоснованию гигиенических нормативов веществ в воде.

## 1. Общие положения

В соответствии с законодательством Российской Федерации гигиенические нормативы предназначены для охраны всех видов вод, используемых населением, в том числе поверхностных, подземных водоисточников и водопроводной воды. Предусматриваются следующие виды нормативов:

- Предельно допустимые концентрации (ПДК).
- Ориентировочные допустимые уровни (ОДУ).

ПДК - максимальная концентрация вещества в воде, в которой вещество при поступлении в организм в течение всей жизни не оказывает прямого или опосредованного влияния на здоровье населения в настоящем и последующих поколениях, а также не ухудшает гигиенические условия водопользования.

ОДУ - ориентировочный допустимый уровень химического вещества в воде - временный гигиенический норматив, разрабатываемый на основе расчетных и экспресс-экспериментальных методов прогноза токсичности, и применяемый только на стадии предупредительного санитарного надзора за проектируемыми или строящимися предприятиями, реконструируемыми очистными сооружениями.

Значимость ПДК и ОДУ в системе водно-санитарного законодательства определяется тем, что:

- соблюдение этих нормативов создает благоприятные условия водопользования, обеспечивая безопасность воды для здоровья населения;
- наличие нормативов позволяет рассчитать нормы ПДС и использовать их при предупредительном и текущем санитарном надзоре;
- сопоставление реальных уровней содержания веществ в воде с их ПДК или ОДУ дает возможность судить, в какой мере вредны и при каких условиях могут быть безвредными промышленные и другие загрязнения, а также оценить эффективность водоохраных мероприятий;
- гигиенические нормативы необходимы при выборе приоритетных показателей загрязнения воды;
- сертификация материалов, реагентов, оборудования, технологий, используемых в системах водоснабжения и очистке сточных вод проводится с использованием гигиенических нормативов мигрирующих в воду веществ.

1.1. В настоящем документе приведены методы обоснования гигиенических нормативов отдельных или объединенных технологией производства (например, целлюлозно-бумажной, нефтехимической промышленности, цветной, черной металлургии и т.п.) химических соединений, как с учетом общих закономерностей токсичности и опасности, так и особенностей нормирования групп веществ однонаправленного применения (ПАВ, средств бытовой химии, красителей, лекарственных средств, реагентов, применяемых в водоподготовке) и препаратов

постоянного смешанного состава.

1.2. Общие критерии и принципы разработки гигиенических нормативов:

- использование системы последовательного обоснования нормативов веществ как основы планирования исследований;
- переход от эмпирического получения данных по единой стандартной схеме нормирования к различным по сложности схемам исследований и оценки результатов в зависимости от свойств и особенностей токсического действия нормируемого химического соединения;
- обязательное использование методов прогноза токсичности и опасности веществ для планирования экспериментов и верификации полученных результатов;
- комплексное изучение неспецифических и специфических реакций организма на интоксикацию с учетом предполагаемого или известного механизма действия вещества (и/или близких по структуре веществ);
- изучение стабильности и оценка относительной опасности исходного вещества и продуктов трансформации, как одного из ведущих критериев вредности;
- использование результатов эпидемиологических исследований для коррекции величин ПДК и принятия решения о необходимости обоснования региональных нормативов;
- в перспективе, по мере накопления соответствующих данных:
  - учет «судьбы» вещества в окружающей среде;
  - транссредовые переходы, накопление в объектах окружающей среды, биоаккумуляция и накопление в трофических цепях - для разработки рекомендаций о необходимости регионального нормирования на основе допустимой суточной дозы (ДСД);
  - применение альтернативных методов оценки токсичности и опасности веществ;
  - изучение биотрансформации;
  - оценка иммунотоксического действия веществ и др.

## 2. Нормативные ссылки

2.1. Закон Российской Федерации «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» от 19 апреля 1991 года.

2.2. Положение о государственном санитарно-эпидемиологическом нормировании, утвержденное постановлением Правительства Российской Федерации от 5 июня 1994 года № 665 с изменениями и дополнениями от 30 июня 1998 года № 680.

2.3. Положение о Государственной санитарно-эпидемиологической службе Российской Федерации, утвержденное постановлением Правительства Российской Федерации от 30 июня 1998 года № 680.

## 3. Схема последовательного (этапного) обоснования нормативов веществ в воде

Особенность гигиенического нормирования химических веществ в воде заключается в том, что при установлении ПДК учитывается несколько признаков вредности: органолептический, токсикологический и общесанитарный. Минимальная из двух (или трех) величин рекомендуется как ПДК с указанием лимитирующего признака вредности.

Оптимальный объем экспериментов следует определять в зависимости от токсичности и опасности конкретного вещества.

Методической основой определения оптимального объема исследований служит схема последовательного (этапного) нормирования. Она позволяет последовательно использовать комплекс расчетных и экспресс-экспериментальных (ускоренных) и углубленных экспериментальных приемов и определить, исходя из класса опасности вещества, стадию, на которой научное обоснование ПДК вещества в воде может быть завершено.

3.1. Составной частью схемы является классификация опасности веществ, загрязняющих воду.

В классификации веществ используется несколько критериев (табл. 3.1).

3.1.1. Основной критерий - соотношение между признаками вредности. Если пороговые концентрации по органолептическому ( $ПК_{орг.}$ ) или общесанитарному ( $ПК_{сан.}$ ) признаку вредности существенно ниже, чем  $ПК_{хр.}$  по токсикологическому признаку вредности, вещество рассматривается как мало опасное (4-й класс) или умеренно опасное (3-й класс).

3.1.2. Второй критерий - абсолютная величина  $ПК_{хр.}$  - применяется только для веществ, которые предполагается нормировать по токсикологическому признаку вредности: чем ниже

величина  $PK_{xp}$ , тем опаснее вещество.

3.1.3. Третий критерий-соотношение  $DL_{50}/ПД_{xp}$  - является количественным критерием кумулятивных свойств веществ. Используется для уточнения 1—3 классов опасности, установленных согласно п. 3.1.1 и с учетом положения, согласно которому вещество тем более опасно, чем более выражена его способность к кумуляции.

3.1.4. Четвертый критерий - способность веществ вызывать отдаленные эффекты - обусловлен тем, что отдаленные эффекты следует рассматривать как более опасное, по сравнению с общетоксическим, действие. По этому критерию оцениваются вещества при уточнении 1—3 классов опасности.

Таблица 3.1

**Классификация опасности веществ при этапном обосновании ПДК (ОДУ) веществ в воде**

Последовательность оценки опасности веществ	Критерий	Класс опасности			
		Первый (чрезвычайно опасные)	Второй (высокоопасные)	Третий (умеренно опасные)	Четвертый (малоопасные)
1	$PK_{xp}/PK_{орг.} (PK_{сан.})$	-	< 10	10—100	> 100
2	$PK_{xp,2}$ мг/л	< 0,01	0,01—1,0	> 1,0—100	> 100
3	$DL_{50}/ПД_{xp}$	> $10^5$	$10^5—10^4$	< $10^4—10^3$	< $10^3$
4	$ПД_{общ.}/ПД_{отд.}$	> 10	4—10	> 1-3	0,1-1
5	стабильность	> 30 суток	1—30 суток	1—24 часа	< 60 мин

3.1.5. Пятый критерий - стабильность вещества. С учетом стабильности, относительной токсичности и опасности вещества и продуктов его трансформации могут быть изменены класс опасности, величина норматива и рекомендации к методам контроля.

3.2. Схема последовательного обоснования ПДК веществ состоит из шести стадий, представленных в табл. 3.2.

Широкое использование расчетных методов прогноза параметров токсичности на каждой стадии исследований служит для правильного планирования экспериментов на последующих стадиях и может рассматриваться как дополнительный критерий надежности при разработке ПДК.

Определение и уточнение класса опасности на всех стадиях гигиенической оценки вещества позволяет сделать заключение о том, достаточен ли объем полученной на данной стадии информации для надежного обоснования ПДК (или ОДУ) или необходим переход к следующей стадии методической схемы.

3.2.1. Первая стадия - «принятие предварительного решения» предусматривает:

- анализ литературы, информационных баз о физико-химических свойствах, биологической и фармакологической активности нормируемого и близких по структуре соединений;
- изучение технологии производства и схем применения вещества;
- расчет  $DL_{50}$ ,  $ПД_{xp}$ , ( $PK_{xp}$ ), МНД (МНК) по физико-химическим и известным токсикометрическим параметрам, по ПДК в других объектах окружающей среды, по аналогии [1];
- в том случае, когда у вещества есть хорошо изученные структурные аналоги - сравнительную оценку его токсичности и соединений генетически родственного ряда на тест-объектах.

Это позволяет получить информацию об основных характеристиках, служащих ориентирами при определении объема дальнейших исследований по схеме последовательного обоснования норматива вещества в воде, включая;

- степень изученности вещества, его принадлежность к уже хорошо изученному или совершенно новому классу химических соединений;
- выраженность и механизм токсического действия;
- способность вызывать отдаленные эффекты;
- наличие утвержденных ПДК в других средах, а также допустимые уровни содержания вещества в объектах окружающей среды, установленные в других странах;

- пути поступления в окружающую среду;
- химические свойства вещества, агрегатное состояние, наличие для него ГОСТа или ТУ.

На основании полученных данных принимаются следующие решения:

- если вещество может поступать в водные объекты при производстве, хранении, транспортировании, использовании какой-либо продукции в промышленности, сельском хозяйстве и в быту, мигрировать в воду из контактирующих с ней материалов, оборудования и реагентов, или каким-то другим путем, включая аварийные ситуации, делается заключение о необходимости обоснования ПДК этого вещества в воде;
- если получена достоверная информация, позволяющая дать рекомендации о величине ПДК по аналогии или по действующим зарубежным регламентам, обоснование гигиенического норматива вещества может быть завершено на стадиях ускоренной оценки или экспресс-эксперимента;
- если по данным литературы вещество относится к особо опасным (например, наркотикам, гормональным препаратам), вызывает выраженные отдаленные эффекты, в частности, канцерогенный, мутагенный, тератогенный, дается рекомендация о запрете на сброс вещества в составе сточных вод.

Далее переходят ко второй стадии исследований и планированию экспериментов с учетом сведений о физико-химических свойствах и особенностях биологической активности вещества.

3.2.2. Вторая стадия - «ускоренная оценка» - начинается с установления пороговых концентраций по органолептическому (ПКорг.) и общесанитарному (ПКсан.), признакам вредности независимо от степени опасности данного вещества или структурно близких соединений.

Оценивается стабильность и трансформация вещества в обычных условиях с учетом естественных процессов открытых водных объектов, при нагревании до температуры кипения и под действием факторов, имеющих место при очистке сточных вод и питьевой воды - хлора, озона, УФИ с применением аналитических, органолептических методов, биотестирования. Определяется класс стабильности вещества по гигиенической классификации (табл. 5.1). Если по результатам исследований стабильности аналитическими или косвенными методами вещество относится к 3 или 4 классам мало- или нестабильных веществ, последующая оценка опасности исходного соединения и продуктов трансформации проводится в сравнительном плане на основе схемы этапного нормирования. Выявление продуктов трансформации в большей степени, чем исходное вещество, влияющих на качество воды, может служить основанием для химической идентификации и обоснования гигиенических нормативов отдельных, наиболее гигиенически значимых из этих соединений [1].

В токсикологических исследованиях определяются параметры острой токсичности -  $DL_{50}$ ,  $TL_{50}$  и др. при пероральном введении, а при наличии информации о выраженной способности вещества проникать через неповрежденную кожу - параметры острой токсичности для кожно-резорбтивного действия [1]. Желательно определение пороговой дозы однократного действия ( $Lim_{ac}$ ). Полученные данные используются для прогнозирования параметров хронической токсичности вещества - пороговой (ПДхр.) и максимально недействующей (МВД) доз или концентраций (ПКхр., МНК) общетоксического действия в условиях хронического опыта. Величины ПДхр., МНД, ПКхр. и МНК рассчитываются по экспериментально установленным значениям  $DL_{50}$ ,  $TL_{50}$  и на основе смешанных математических моделей, включающих наряду с токсикометрическими параметрами, физико-химические, биологические константы или элементы зависимостей «структура-активность». Используются также результаты прогнозирования параметров хронической токсичности на предыдущем этапе схемы. Возможен расчет пороговых доз кожно-резорбтивного действия [1]. По соотношению расчетных ПКхр. и экспериментально установленных ПКорг. и ПКсан. определяется класс опасности вещества.

Исследования могут быть закончены на этой стадии, если:

- вещество относится к хорошо изученному структурному ряду сходных по механизму действия химических соединений и методы прогноза хронической токсичности основаны на данных репрезентативного ряда нормированных в воде веществ;
- по соотношению расчетных параметров хронической токсичности и экспериментально установленных пороговых концентраций по влиянию на органолептические свойства воды и санитарный режим водоемов вещество принадлежит к 4-му классу опасности;
- достоверно известно, что вещество не вызывает отдаленных эффектов;
- вещество легко в течение не более 24 часов гидролизует с образованием уже нормированных продуктов трансформации.

При соблюдении этих условий возможно установление ПДК для веществ 4-го класса и ОДУ

для веществ 3 — 4 классов опасности.

В остальных случаях переходят к третьей стадии исследований, предварительно определяя в условиях острых опытов видовые, половые и возрастные различия чувствительности животных к веществу.

3.2.3. Третья стадия - «экспресс-эксперимент» - предусматривает проведение подострых и экспресс-экспериментальных исследований с последующим прогнозом полученных результатов на более длительные сроки воздействия.

В подострых опытах изучаются:

- общетоксический эффект - по специфическим и интегральным показателям (с применением функциональных нагрузок) при ежедневном энтеральном введении вещества для всех веществ и в отдельных случаях, для ограниченного числа веществ, - при поступлении через кожу (только если острая токсичность при кожно-резорбтивном действии близка или на более низком уровне, чем при пероральном введении вещества);

- основные отдаленные эффекты:

- гонадотоксический - в конце подострого опыта по функциональным показателям;

- эмбриотоксический - если он может ожидаться по литературным данным или по структурной аналогии;

- мутагенный - в опытах на лабораторных животных (например, по микроядерному тесту);

- кумулятивные свойства;

- процессы накопления веществ в органах и тканях и выведение его и/или метаболитов из организма.

Основная цель подострых опытов - обоснование пороговой дозы подострого эксперимента (ПД<sub>пэк</sub>) по общетоксическому действию и пороговых доз по отдаленным эффектам.

Результаты исследований используют для прогнозирования пороговой дозы хронического действия (ПД<sub>хр</sub>) и МНД на основе зависимости «доза-время-эффект» и расчета соотношения пороговых доз подострого опыта по общетоксическому и отдаленным эффектам (табл. 10.2 и 11.1).

Если установлено, что ПД<sub>пэк</sub> по общетоксическому эффекту значительно ниже (в 10 и более раз) порога отдаленного эффекта, то в условиях хронического опыта отдаленные эффекты можно не изучать.

На стадии экспресс-эксперимента проводят химическую идентификацию продуктов трансформации нормируемого вещества, если предыдущие исследования свидетельствуют об их значительно более выраженном, чем у исходного вещества, неблагоприятном влиянии на качество воды. Принимается решение о необходимости отдельных экспериментальных исследований с наиболее гигиенически значимым(и) продуктом (продуктами) трансформации для обоснования его (их) гигиенического норматива.

Объем исследований, предусмотренный тремя стадиями схемы, достаточен для обоснования ПДК веществ 3—4 классов опасности, относящихся к хорошо изученным структурным рядам. Возможно установление ОДУ веществ 2-го класса опасности.

3.2.4. Четвертая стадия - «хронический эксперимент» - является необходимым элементом при оценке токсического действия веществ, отнесенных по результатам первых трех стадий исследований к 1—2 классам опасности, особенно в случаях выявления у них отдаленных эффектов, а также для надежного нормирования малоизученных соединений 3-го класса опасности. Включает трехмесячный или, в случае нарастания токсического эффекта во времени, большей продолжительности опыт с ежедневным введением вещества (или продуктов его трансформации) животным и предусматривает экспериментальное определение пороговой и недействующей доз изучаемых соединений с учетом их токсико-динамических свойств и видов биологического действия в соответствии с современным уровнем знаний.

Наряду с изучением общетоксического эффекта проводят исследования:

- кожно-резорбтивного действия;

- мутагенного эффекта;

- гонадотоксического эффекта по функциональным и морфологическим показателям, если на предыдущих стадиях схемы эти виды биологического действия были выявлены в тех же дозах, что и общетоксический эффект.

Четырех стадий схемы достаточно для надежного обоснования ПДК большинства веществ 1—3 классов опасности с учетом коэффициента запаса по основным видам отдаленных эффектов при экстраполяции данных с животных на человека.

3.2.5. Пятая стадия - «специальная» - необходима для чрезвычайно токсичных и высококумулятивных веществ при недостатке информации о характере токсического действия,

для веществ 1-го класса опасности, обладающих канцерогенным и атеросклеротическим эффектами, а также для изучения специальных видов биологического действия:

- аллергенного;
- отдаленного нейротоксического;
- эмбриотоксического;
- тератогенного.

Эта стадия включает пожизненные опыты, изучение развивающегося потомства 1-го и 2-го поколений и т. д.

3.2.6. Шестая стадия - «эпидемиологические исследования» - включается в схему при возможности вычленить влияние данного вещества из всего комплекса воздействующих факторов, и/или рассчитать зависимость «концентрация-риск». Полученные результаты могут служить основанием для корректировки ПДК с учетом влияния на состояние здоровья населения и условий водопользования в районе ниже сброса сточных вод, содержащих изученное вещество. Стадия позволяет уточнить гигиенические рекомендации к условиям сброса сточных вод на основе аналитического контроля за содержанием вещества и/или продуктов трансформации в воде.

Таблица 3.2

Схема обоснования ПДК веществ в воде

№№ пп	Название стадии	Объем исследований	Полученная информация	Класс опасности, для которого достаточна эта стадия
1	2	3	4	5
1	Принятие предварительного решения	Анализ литературы. Изучение технологии производства и/или применения. Ориентировочный расчет гигиенических параметров по физико-химическим параметрам, ПДК в других объектах и других странах	Расчетные $DL_{50}$ , МНД. Выбор схемы разработки ПДК, степень приоритетности вещества	
2	Ускоренная оценка	Оценка влияния на органолептические свойства воды и санитарный режим водоемов, выявление способности к трансформации, острые токсикологические опыты, в т. ч. для определения видовых, половых и возрастных различий чувствительности к веществу. Расчет параметров хронической токсичности по $DL_{50}$ , $TL_{50}$ и смешанным математическим моделям. Определение класса опасности	$ПК_{орг}$ , $ПК_{сан}$ , $DL_{50}$ , $TL_{50}$ , $Lim_{ac}$ , расчетные $ПД_{хр.}$ , МНД, класс опасности, ПДК, ОДУ, способность вещества к трансформации, класс опасности по трансформации $K_{кум.}$	4-ПДК  3-ОДУ
3	Экспресс-эксперимент	Подострый опыт. Изучение гонадотоксичности по функциональным показателям, эмбриотоксичности, мутагенного эффекта в скрининговых опытах. Оценка кожно-резорбтивного действия. Прогноз параметров хронической токсичности и определение класса опасности вещества. Идентификация продуктов трансформации	$ПД_{пэк}$ , пороговые дозы отдаленных эффектов, расчетные МНД, класс опасности, ПДК, ОДУ	3-ПДК  2 ОДУ
4	Хронический опыт	Хронический опыт для изучения общетоксического действия. Оценка	$ПД_{общ.}$ , $МНД_{общ.}$ , $ПД_{отд.}$ , $МНД_{отд.}$ , $K_3$	1—2

		мутагенного, гонадотоксического эффектов. Оценка опасности продуктов трансформации. Расчет коэффициентов запаса, экстраполяция данных с животных на человека	Сравнительная токсичность продуктов трансформации. Класс опасности, ПДК	
5	Специальные исследования	Углубленное изучение канцерогенного, атеросклеротического, аллергенного эффектов. Дополнительные исследования гонадо-, эмбриотоксического, мутагенного эффектов. Обоснование ПДК	ПД <sub>хр.</sub> по специфическим и отдаленным эффектам, ПДК	1
6	Эпидемиологические исследования	Связь состояния здоровья и условий водопользования населения с содержанием вещества и/или продуктов его трансформации в воде	Корректировка ПДК, Оценка эффективности гигиенических водоохраных мероприятий	1—4
<b>Примечание:</b> 2—4 стадии схемы могут применяться как к исходному нормируемому веществу, так и к продуктам его трансформации.				

#### 4. Физико-химическая и производственно-технологическая характеристики вещества

Для определения объема, условий и задач исследований должны использоваться:

4.1. Физико-химическая характеристика вещества, в т. ч.:

4.1.1. Химическое название по номенклатуре IUPAC и номер по CAS, синонимы химического и товарного названий, эмпирическая и структурная формулы, сведения об агрегатном состоянии;

4.1.2. Чистота представленного образца. Недопустимо изучение веществ без паспортных данных - перечня примесей с указанием их количества. Данные используются для определения возможности нормировать заявленное вещество как самостоятельное химическое соединение или как смесь постоянного состава.

4.1.3. Обязательное наличие ГОСТа или ТУ на химический состав для смесей постоянного состава. При отсутствии ГОСТа или ТУ или других доказательств постоянства состава смесь нормированию не подлежит.

4.1.4. Вероятность трансформации вещества в разных условиях:

- под влиянием природных и антропогенных факторов, в т. ч. методов очистки;
- при хранении (при температуре 20 °С);
- при гидролизе или взаимодействии с хлором в водных растворах (при разных температурах и рН =6,0—9,0).

А также сведения о возможных продуктах трансформации; способность вещества к полимеризации.

4.1.5. Показатели, необходимые для определения безопасных условий работы: горючесть, температура воспламенения, взрывоопасность, пределы взрываемости (объемные проценты в воздухе), температура плавления, упругость паров (при  $t = 20\text{ °С}$  и  $D = 760\text{ мм рт. ст.}$ ).

4.1.6. Показатели, которые одновременно могут использоваться для определения условий эксперимента и прогноза токсичности веществ:

- молекулярная масса;
- удельная масса;
- растворимость в воде в мг/л (при  $t = 20\text{ °С}$ ), смешиваемость;
- константы диссоциации в воде (при  $t = 20\text{ °С}$ );
- коэффициент распределения в системе октанол/вода;
- дипольный момент.

К некоторым справочным данным следует относиться критически. Например, вещества, оцениваемые, согласно справочникам, как нерастворимые или труднорастворимые, по гигиеническим критериям являются достаточно хорошо растворимыми, ибо способны образовывать растворы с концентрациями, измеряемыми в мг/л или долях мг/л.

4.2. Производственно-технологическая характеристика для определения вида норматива, целесообразности единого нормирования на основе допустимой суточной дозы (ДСД) и т. п., которая включает:

4.2.1. Назначение вещества (область, формы, способы применения).

4.2.2. Общую характеристику технологического процесса получения вещества (использования в технологии), вероятность и причины попадания в сточные воды; условия отведения сточных вод и применяемые (проектируемые) способы их очистки.

4.2.3. Стадия технологической разработки к моменту исследования (лабораторная установка, опытная партия, промышленное производство - проектируемое, действующее), производство отечественное или зарубежное.

4.2.4. Объем (существующий и планируемый) производства и/или использования.

4.2.5. Характеристика водного объекта-приемника (расход воды, вероятность поступления в воду исследуемого химического соединения и других загрязняющих веществ из других источников).

4.2.6. Возможность поступления исследуемого вещества в другие объекты окружающей среды - атмосферный воздух, почву (ориентировочный валовый сброс).

## **5. Оценка стабильности и трансформации веществ в водной среде**

Цель исследования стабильности и трансформации - выявление образования продуктов трансформации, уточнение класса опасности и величины норматива вещества в воде.

Дополнительно эти исследования могут использоваться для выбора методов очистки сточных вод от изучаемого соединения.

В таблице 5.1 представлена схема оценки стабильности и трансформации веществ в воде. Она включает минимальный и оптимальный наборы взаимодополняющих факторов.

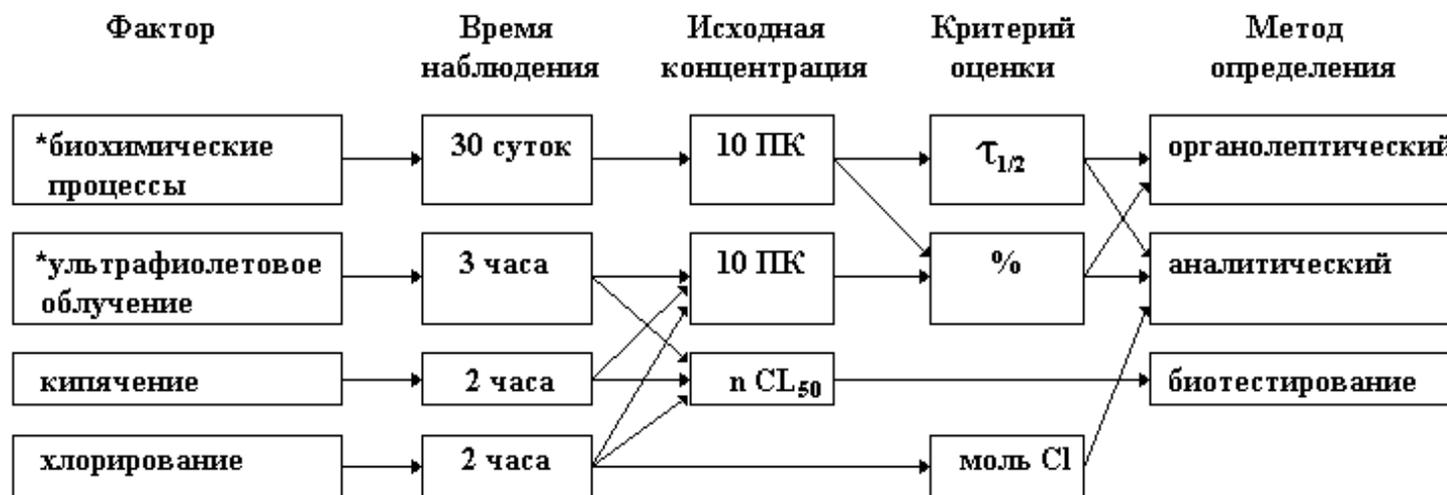
Поскольку исследования направлены на изучение двух взаимосвязанных показателей: стабильности и трансформации - целесообразна определенная последовательность экспериментов.

5.1.1. Теоретическое изучение способности вещества к трансформации:

- по физико-химическим свойствам;
- по технологическим регламентам, паспорту вещества, указанию об условиях и сроках хранения;
- по рекомендованным методам очистки сточных вод.

5.1.2. Предварительная оценка способности вещества к биохимическому окислению в условиях естественного самоочищения водной среды или на биологических очистных сооружениях может проводиться по динамике БПК. При этом стимуляция БПК в первые пять суток свидетельствует о способности к окислению неадаптированной микрофлорой и кислородом, содержащимся в воде, а проявление стимуляции через 10—15 суток - об окислении за счет микрофлоры второй стадии минерализации или о возможности развития адаптированной микрофлоры, окисляющей это вещество.

Оптимальная и минимальная (\*) схемы изучения стабильности и трансформации веществ в воде



На основании динамики БПК дается качественная оценка стабильности (из-за невозможности стандартизовать состав микрофлоры).

5.1.3. Если результаты изучения БПК свидетельствуют о способности вещества к трансформации, проводятся исследования в модельных водоемах, в которые помещаются растворы вещества в естественной прудовой или речной воде. Можно использовать модельную воду со стандартизованным солевым и микробным составом. Результаты эксперимента выражаются величиной периода полутрансформации ( $\tau_{1/2}$ ). При  $\tau_{1/2} > 15$  суток необходимо изучить биоразлагаемость вещества в аэробных условиях.

5.1.4. Определение показателей биоразлагаемости веществ в аэробных условиях позволяет оценить их стабильность и трансформацию под влиянием микрофлоры и других гидробионтов, составляющих активный ил в аэротенках. Биоразлагаемость определяется в стандартизованных условиях в соответствии с ГОСТом Р 50595—93.

5.2. Опасность вещества и продуктов его трансформации изучается при действии деструктирующих факторов, применяемых при водоподготовке и приготовлении пищи (ультрафиолетовое облучение, озонирование, хлорирование, кипячение).

5.3. Методы определения стабильности и трансформации:

- физико-химические;
- органолептические;
- тестирование на биообъектах.

5.3.1. При наличии химико-аналитических методов целесообразно не только количественно установить убыль вещества, но и идентифицировать продукты трансформации. Особенно важно определить, происходит ли разрушение (деструкция) или изменение строения вещества (появление новых радикалов, превращение в соль и т. д.) без разрушения исходной молекулы. Такие изменения требуют особого внимания при оценке опасности продуктов трансформации.

Изменение перманганатной, бихроматной окисляемости также может дать представление о степени деструкции вещества.

5.3.2. Органолептические исследования проводятся в соответствии с разделом 6.

5.3.3. Биотестирование растворов исходного вещества и продуктов трансформации проводится согласно общепринятой методики [2].

5.4. Изучение стабильности необходимо проводить в унифицированных условиях.

Таблица 5.2

### Гигиеническая классификация веществ по стабильности

Класс стабильности	Естественное самоочищение $\tau_{1/2}$	При фиксированном времени действия деструктирующего фактора (УФО, кипячение и т. п.), % деструкции	По биоразлагаемости		Гигиеническая оценка
			$\tau$ индукции активного ила, сут.	$\tau_{1/2}$ разложения неадаптированным или адаптированным активным илом, ч	
1. Чрезвычайно стабильные вещества	> 15 суток	< 40	> 25	> 4,33	Нормирование исходного вещества с $K_3=10$ , класс опасности уменьшается на 1
2. Стабильные вещества	1—15 суток	40—80	3—25	> 1,5—4,33	Нормирование исходного вещества с $K_3=5$
3. Малостабильные вещества	1—24 часа	81—95	3—10	0,22—1,5	Нормирование исходного вещества и продуктов его трансформации
4. Нестабильные вещества	< 60 мин	> 95	< 3	< 0,22	

Растворы веществ готовятся на дехлорированной водопроводной воде. Исходная концентрация зависит от метода определения. При химико-аналитическом определении исходная концентрация  $\leq 10$  ПДК, при органолептическом - исходная концентрация должна создавать изменение органолептических свойств интенсивностью 4—5 баллов, при биотестировании концентрации должны быть близкими  $CL_{50}$  исходного вещества для изучаемого тест-объекта. Выбор интенсивности и длительности воздействия трансформирующих факторов определяется решением двух задач.

При максимальном воздействии выясняют, вызывает ли этот фактор уменьшение содержания вещества, и какие продукты трансформации образуются при максимальном разрушении вещества. Если в этих условиях не обнаруживается эффект трансформации, исследования прекращаются. При иных результатах исследуется действие факторов, по интенсивности близкое к реальному.

5.4.1. Изучение влияния ультрафиолетового облучения проводят в кварцевом стакане объемом 0,75 л. Мощность ультрафиолетовой лампы - 6 квт, расстояние от освещаемой поверхности воды 15 см, объем раствора 0,5 л, время воздействия - 3 часа. Критерий оценки - процент деструкции за исследуемый период времени .

5.4.2. Влияние озонирования изучается в реакторе с механической мешалкой. Осушенный воздух пропускается через озонатор и с помощью барботера - через исследуемый раствор. Напряжение в озонаторе - 8 кВт. Скорость подачи озона в раствор - 18 мг/час. Длительность воздействия - 3 часа и/или 30 минут. Контроль за содержанием озона в воде - иодометрический, концентрация озона в растворе 0,5—1,5 мг/л, остаточный озон - 0,1—0,3 мг/л. Для летучих веществ воздействие озонирования оценивается путем смешения с водой, содержащей 0,5—1,5 мг/л озона.

Критерий оценки - процент деструкции вещества.

5.4.3. Гидролиз при кипячении изучается в растворах, приготовленных на дистиллированной воде. Кипячение в течение 2-х часов и/или 5 мин с обратным холодильником. Критерий оценки процент деструкции вещества за время воздействия.

5.4.4. Изучение влияния хлорирования на структуру вещества проводится согласно [3]. Начальная концентрация хлора - 3 мг/л, при перхлорировании - 10 мг/л. Максимальное время воздействия 2 часа. Можно определять дополнительно воздействие хлора через 15, 30 и 60 мин.

5.5. Класс опасности веществ по стабильности определяется последовательно на основании комплексной оценки по табл. 5.2. В качестве лимитирующего показателя стабильности химического агента принимается  $\tau_{1/2}$  в модельном водоеме или показатели биоразлагаемости. Оценка опасности продуктов трансформации - по результатам опытов с дополнительными деструктирующими факторами.

5.6. Для веществ 3 и 4 классов стабильности на первое место выступает сравнительная оценка опасности исходного вещества и продуктов трансформации.

5.7. Если вещество разлагается с образованием ранее не нормированных в воде компонентов, помимо ПДК исходного соединения обосновываются нормативы и для продуктов его трансформации.

## **6. Определение пороговых концентраций по влиянию веществ на органолептические свойства воды**

Органолептические свойства воды - воспринимаемая рецепторами человека совокупность показателей качества воды: запах, привкус, окраска, прозрачность (мутность), наличие пленок или пены на поверхности воды, посторонних включений, плавающих примесей, осадка. Многие вредные вещества способны изменять органолептические свойства воды, поэтому более чем для половины изученных веществ эти свойства были определяющими при установлении их ПДК в воде.

Целью изучения влияния веществ на органолептические свойства воды является установление пороговых концентраций ( $ПК_{орг.}$ ) по этому признаку вредности с использованием различных методов: полуколичественных - для оценки интенсивности восприятия запаха (привкуса) в баллах и более объективных количественных на основе альтернативных оценок.

6.1. Объем исследований зависит от свойств вещества. Если по результатам полуколичественной оценки вещество или продукты его трансформации незначительно изменяют органолептические свойства воды, и можно предположить, что органолептический признак вредности не будет лимитирующим в установлении величины ПДК, нет необходимости

переходить к количественным методам оценки. Если влияние на один из органолептических показателей заведомо более выражено, необязательно оценивать количественно другие показатели органолептической активности. Оценка запаха с провоцированием хлорирования необходима только в том случае, когда строение и свойства вещества позволяют предположить способность к образованию хлорпроизводных соединений. При образовании продуктов трансформации, не нормированных ранее и обладающих более выраженным, чем исходное вещество, влиянием на органолептические свойства воды, проводятся самостоятельные эксперименты по установлению для них пороговых концентраций по органолептическому признаку вредности.

Оценка интенсивности изменений органолептических свойств осуществляется людьми (дегустаторами), предпочтительно специалистами, имеющими опыт в данной области, нежелательно участие курящих лиц.

В эксперименте используются только безопасные для здоровья человека концентрации, которые выбираются по литературным данным или результатам собственных исследований.

При проведении исследований необходимо соблюдение ряда условий, обеспечивающих получение более объективных данных. Помещение должно быть хорошо проветрено, без посторонних запахов. Дегустаторы допускаются к оценке воды через 1,5—2 часа после приема пищи, воды.

Предварительно они должны быть ознакомлены с характером запаха и привкуса исследуемой воды. Характер запаха определяется при температуре 20 и 60 °С, привкуса - при 20 и 40 °С.

6.2. Для определения запаха воды используются широкогорлые с притертыми пробками колбы Эрленмейера объемом 500 мл, в которые наливают по 200 мл исследуемого образца. В качестве контрольной используется колодезная, ключевая или дехлорированная водопроводная вода, не имеющая не свойственного ей запаха (привкуса).

Колбу с 200 мл исследуемого образца закрывают пробкой и перемешивают ее содержимое вращательными движениями, после чего колба открывается и дегустатор делает несколько глубоких вдохов, определяя характер и интенсивность запаха.

Запах характеризуется качественно в зависимости от его вида, например, ароматический, нефтепродуктов, гнилостный, землистый и др.

6.2.1. Оценка запаха при 60 °С проводится следующим образом.

Горлышко колбы закрывается стеклом и колба подогревается на водяной бане до нужной температуры, после чего анализируется интенсивность запаха.

6.3. Для определения привкуса воды допускается приготовление анализируемого вещества в любых емкостях. 10—15 мл исследуемой воды набирается в рот и задерживается на 3—5 сек (как, например, при дегустации вина), затем воду удаляют из полости рта. Качественно характеризуется вкус воды: соленый, кислый, горький, сладкий, или привкус: щелочной, терпкий, затхлый, металлический и т.д.

Интервал между определениями - не менее 2—3 мин.

6.4. Определение пороговых концентраций по запаху, (привкусу) проводится при различных концентрациях вещества в воде. Исследования выполняются в две стадии.

6.4.1. На предварительной стадии применяется метод оценки запаха (привкуса) в баллах. С этой целью готовится исходный истинный раствор вещества, обладающий отчетливым запахом или привкусом. Ряд исследуемых образцов готовится путем последовательного разведения каждой пробы в 2 раза. Определение ведут в направлении от меньшей концентрации к наибольшей в ряду исследуемых проб, сопоставляя каждый образец с контрольной пробой. Опыты проводят в несколько серий с различными концентрациями вещества. Группа дегустаторов должна состоять не менее, чем из пяти-семи человек.

6.4.2. Интенсивность запаха (или привкуса) оценивается по соответствующей шкале (табл. 6.1)

Таблица 6.1

### **Шкала интенсивности запаха (привкуса)**

Характер проявления	Оценка интенсивности, баллов
Не ощущается	0
Не ощущается населением, но обнаруживается опытным дегустатором	1
Замечается населением, если обратить на это его внимание	2
Легко обнаруживается и вызывает неодобрительный отзыв о воде	3
Обращает на себя внимание и заставляет воздерживаться от питья	4
Настолько сильный, что делает воду непригодной для употребления	5

Результаты обобщаются в виде сводной таблицы (табл. 6.2). На основании исходных данных рассчитывают среднегеометрические концентрации, соответствующие 1 и 2 баллам. За пороговую концентрацию рекомендуется принимать нижнюю доверительную границу средней величины, которая обеспечивает 95 %-ную достоверность. Аналогичные расчеты применимы и для оценки влияния веществ на привкус воды.

Таблица 6.2

### Определение интенсивности запаха воды с различным содержанием в ней полихлорпинена

Концентрация вещества, мг/л	Интенсивность запаха, баллов									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	M <sup>1</sup>
0,25	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0,22
0,5	0	2	2	0	1	0	0	0	0	0,55
1	1	2—3	2—3	1	2	2	1	1	1	1,57
2	2	3	3	2	3	3	2	2	3	2,55
4	3—4	3—4	3—4	3	4	4	2	2	5	3,85
8	5	4	4—5	4	5	5	4	4	5	4,94

M<sup>1</sup> - среднеарифметическое значение.

Критерием гигиенического нормирования веществ является порог восприятия запаха (привкуса), соответствующий 1 баллу. Если в пределах растворимости вещества интенсивность запаха (привкуса) не превышает 1—2 баллов, исследования заканчиваются на первой стадии, а в результатах указывается: пороговая концентрация вещества по влиянию на запах (привкус) воды выше его концентрации на пределе растворимости.

6.5. Определение пороговых концентраций по влиянию на окраску, мутность воды проводится в столбе раствора высотой 10 и 20 см.

Используются 4—5 цилиндров Генера, которые устанавливаются на белой бумаге при равномерном освещении.

6.6. Пороговая концентрация по пенообразованию определяется с помощью градуированных цилиндров емкостью 1000 мл с притертыми пробками. В них наливается по 500 мл исследуемого раствора и контрольная вода. В течение 15 секунд производится 15 умеренно резких опрокидываний цилиндров - сначала контрольных, а затем опытного - и отмечается интенсивность пенообразования. За пороговую принимается концентрация, при которой отсутствует стабильная крупнопузырчатая пена, а высота мелкопузырчатой у стенок цилиндра не превышает 1 мм.

6.7. Определение пороговых концентраций по таким критериям, как посторонние включения или плавающие примеси, проводится в стакане объемом 500 мл, в который наливается 250 мл раствора, а в 4 других стакана - аналогичные растворы сравнения. Пороговой считается количество вещества, при котором не обнаруживается визуально ни одной видимой частицы в толще, на поверхности или на дне.

6.8. С целью получения более точных пороговых величин проводят вторую стадию исследований - «закрытый» опыт методом пятиугольника или, в крайнем случае, треугольника. «Закрытый» опыт используется для установления пороговых концентраций по запаху, привкусу, пленко- и пенообразованию, а также по влиянию на окраску воды.

Этот метод основан на принципе учета различной (дифференцированной) чувствительности человека при альтернативной оценке эффекта.

6.8.1. На основании первой стадии (п. 6.7) выбирается кратность последовательного разведения растворов  $\leq 1,5$ , которая является оптимальной при определении ПК по запаху, привкусу, окраске, мутности и пенообразованию. При определении ПК по плавающим примесям, пленке допустима кратность 2,0. На основании первой стадии выбирают концентрации = 3 баллам.

6.8.2. Каждая опытная проба группируется с четырьмя-двумя контрольными пробами. Дегустаторам предлагается найти опытную пробу в каждой группе. Последовательность поиска опытной пробы - от меньшей концентрации к большей. Регистрируют результаты оценки проб, фиксируя номер колбы, которую дегустатор считает опытной. Подсчитывается процент дегустаторов, правильно указавших опытную пробу, из всего числа лиц, принимающих участие в опыте. Общее число наблюдений по определению каждой концентрации должно быть в пределах 30—50. Последовательно чередуются четыре-пять концентраций. Опыт можно считать законченным, если в ряду изученных концентраций процент правильных ответов варьировался в пределах от 20—30 до 60—80 %. Иначе необходимо продолжить исследования.

Результаты опытов записываются в форме таблицы 6.3.

6.8.3 Анализ полученных данных выполняется или с помощью расчетов на компьютере, или графическим методом в двойном логарифмическом масштабе.

Проценты правильных положительных ответов для каждой испытанной концентрации веществ оцениваются так же, как результаты острых опытов в токсикологических исследованиях. Вычисляется величина среднеэффективной концентрации и ее ошибка ( $EC_{50} \pm m$ ). Эту величину можно с достаточной надежностью рассматривать как порог ощущения.

При проведении исследований методом «закрытого» опыта следует учитывать вероятность случайности правильного ответа. Теоретически процент таких ответов при использовании метода пятиугольника может достигать 20, а для метода треугольника - 33.

Таблица 6.3

#### Влияние толуола на запах воды

Концентрация толуола, мг/л	Количество наблюдений	Число положительных ответов	Положительные ответы, %
0,1	80	60	75
0,075	40	19	47,5
0,05	48	15	31,2
0,0325	80	10	12,15
контроль	60	9	15

Для получения более точных результатов можно исключить эту ошибку, используя формулу Шнейдера-Орелли, предложенную для корректировки результатов острых опытов, но, как показала практика, приемлемую и для органолептических исследований:

$$X_{см} = \frac{X_{np.}}{100 - X_{ош.}} - \frac{X_{ош.}}{100 - X_{ош.}} \cdot 100, \text{ где}$$

$X_{см.}$  - стандартизованный процент правильных ответов;

$X_{np.}$  - экспериментально полученный процент правильных ответов;

$X_{ош.}$  - процент ошибочных ответов, в данной группировке проб на одну контрольную пробу.

Величина  $EC_{50}$  по влиянию на запах, привкус, окраску, образование пленок, пены, мутности принимаются в качестве пороговых. Наименьшая из пороговых концентраций по тому или иному органолептическому показателю принимается за пороговую по органолептическому признаку вредности.

Абсолютно нерастворимые, несмачивающиеся вещества, относящиеся к 4-ому классу токсичности ( $DL_{50} > 10\ 000$ ), не вызывающие изменений в кратковременных опытах в дозах  $>500$  мг/кг, могут нормироваться, как взвешенные природные вещества на уровне 0,25 мг/л.

#### 7. Экспериментальное установление пороговых концентраций веществ по влиянию на процессы самоочищения водных объектов

7.1. Санитарный режим водных объектов в зонах влияния выбросов сточных вод определяется интенсивностью процессов естественного самоочищения, в ходе которых происходит потребление кислорода, развитие и отмирание сапрофитной и патогенной микрофлоры, трансформация и минерализация органических соединений.

В общем виде процесс биохимического потребления кислорода происходит в 2 стадии: первая - окисление нестойких органических соединений - развивается довольно быстро и носит экспоненциальный характер; вторая - окисление стойких органических веществ протекает в природных водах медленнее и, как правило, линейно. Интенсификация второй стадии потребления кислорода в скляночном опыте означает наступление активации окисления азотсодержащих веществ или адаптации микрофлоры к ассимиляции изучаемого вещества.

7.2. Целью экспериментального гигиенического исследования влияния вещества на процессы естественного самоочищения водных объектов является обобщенная оценка интенсивности и направленности взаимосвязанных фаз биохимического окисления естественных органических веществ (БПК, аммонификации, нитрификации, развития и отмирания микрофлоры), обоснование пороговых концентраций вещества по общесанитарному признаку вредности ( $ПК_{сан.}$ ).

7.3. Объем исследования дифференцируется в зависимости от задач и результатов комплексной оценки токсиколого-гигиенических свойств веществ.

7.3.1. Проводятся исследования БПК за 5 (7) суток в динамике: тотчас, через 1, 3 и 5 (7) суток и определяется  $ПК_{сан.}$ .

7.3.2. После установления  $ПК_{орг.}$  и  $ПК_{хр.}$  по санитарно-токсикологическому признаку вредности они сопоставляются с  $ПК_{сан.}$  по БПК<sub>5</sub> (БПК<sub>7</sub>).

При  $ПК_{сан.}/ПК_{орг.}$ ,  $ПК_{сан.}/ПК_{хр.} > 1$  исследования процессов самоочищения могут считаться завершенными.

При  $ПК_{сан.}/ПК_{орг.}$ ,  $ПК_{сан.}/ПК_{хр.} < 1$  необходимы уточняющие исследования с изучением влияния веществ на динамику содержания аммиака, нитритов и нитратов в воде модельных водоемов. При стимуляции БПК необходимо продолжить наблюдения на 7—10—15—20 сутки.

7.3.3. Для уточнения характера влияния вещества на процессы естественного самоочищения в качестве дополнительных могут применяться методы исследования динамики развития и отмирания микрофлоры. Дополнительные исследования в модельных водоемах со стандартизованной водой позволят получить представление о воспроизводимости результатов.

Каждый показатель исследуется не менее, чем в 3-х сериях опытов.

7.4. Выбор концентраций для опыта проводят по данным о растворимости и стабильности вещества, величине химического потребления кислорода в расчете на 1 мг вещества.

В первой ориентировочной серии допустимы различия между концентрациями вещества в 10 раз, в последующих 3-х сериях исследуют 3—4 концентрации, отличающиеся одна от другой в 3—4 раза. Контролем служит разводящая вода без вещества.

7.5. В связи с высокой вариабельностью процессов самоочищения, как в скляночных опытах, так и в модельных водоемах, необходимо соблюдение ряда требований к разводящей воде и правилам ее подготовки.

В качестве источника органических веществ естественного происхождения и активной сапрофитной микрофлоры используют хозяйственно-бытовую сточную воду, которая должна быть свободна от примесей ингредиентов промышленных сточных вод и взвешенных веществ. Длительное хранение (более 24 ч) хозяйственно-бытовой жидкости при температуре 20 °С недопустимо. При проведении ориентировочных опытов готовая смесь этой жидкости с разводящей водой должна храниться в холодильнике при температуре 4—8 °С. Перед началом эксперимента перманганатным методом определяют окисляемость водной смеси с хозяйственно-бытовой сточной жидкостью. Если величина окисляемости выше 15 мг O<sub>2</sub>/л, сточная вода разбавляется. В качестве разводящей воды используется дехлорированная водопроводная вода, свободная от веществ, оказывающих влияние на процессы БПК. Вода насыщается кислородом воздуха до концентрации 6,0—8,0 мг/л. Сосуды для этой воды нельзя использовать для других целей. Целесообразно, чтобы аэрированная вода имела температуру около 20 градусов.

После разбавления окисляемость смеси не должна превышать 8—9 мг O<sub>2</sub>/л.

7.6. Определение окисляемости, БПК, аммиака, нитритов, нитратов проводится общепринятыми методами [1].

В дополнительных исследованиях может использоваться стандартизованная разводящая вода.

Допускается изучение слаборастворимых веществ в смеси с ПАВ или в виде

мелкодисперсной взвеси или эмульсии. Контролем при этом служит разводящая вода, содержащая соответствующее количество ПАВ.

7.7. Правильность постановки опыта проверяется по следующим критериям.

7.7.1. Величина БПК за первые сутки должна быть в пределах 0,7—1,2 мг/л, а к концу опыта - не менее 3 мг/л. Динамика процесса БПК выражается зависимостью, близкой к экспоненциальной, не наблюдается смена подъемов и снижений кривой. В двойном логарифмическом масштабе график зависимости представляет собой прямую.

7.7.2. Баланс уменьшения количества аммиачного азота, нарастания и убыли нитритного азота и нарастания азота нитратов (до 0,1 мг/л) должен сохраняться в каждый момент определения.

7.7.3. При длительных исследованиях динамики БПК дополнительная интенсификация процесса на 5—10 или 15 сутки может быть отражением наступления второй стадии минерализации и сопровождаться накоплением нитратов в воде.

7.8. Результаты всех стадий исследований представляются в форме таблиц, а динамика ВПК и динамика развития и отмирания микрофлоры - и в виде графиков.

7.9. При оценке экспериментальных данных выводы делаются на основании каждой серии в отдельности. В силу высокой вариабельности процессов в разных сериях, усреднение и статистическая обработка результатов не допускаются.

7.9.1. Высокая вариабельность процессов самоочищения не позволяет принимать во внимание отклонения от контроля < 15%. С гигиенических позиций процессы ингибирования самоочищения более опасны, чем стимуляция. Поэтому необходима дифференциация критериев вредности в зависимости от направленности нарушения первой стадии минерализации. При ее ингибировании за пороговую принимается концентрация вещества, вызывающая угнетение БПК на 15 %, а при стимуляции - на 20 %. При преимущественном влиянии вещества на вторую стадию минерализации критерием пороговой дозы является 15 %-ное отклонение от контроля.

7.9.2. Если при наименьшей из действующих концентраций БПК отличается от контроля больше или меньше, чем на 15 % (или 20 %), пороговую концентрацию можно рассчитать на основании линейной полулогарифмической зависимости «концентрация-эффект» графическим или статистическим методом и, таким образом, получить более точную величину  $ПК_{сан}$ .

7.9.3. Для уточнения величин пороговых концентраций при стимуляции БПК можно определить, сколько в процессе биохимического окисления приходится кислорода на 1 мг изучаемого вещества:

$$A = \frac{БПК_x - БПК_k}{C}, \text{ где}$$

$A$  - количество кислорода на 1 мг изучаемого вещества;

$БПК_x$  - БПК в опыте, последний срок наблюдения;

$БПК_k$  - БПК в контроле в последний срок наблюдения;

$C$  - концентрация изучаемого вещества (мг/л). Правилами охраны поверхностных вод от загрязнения предусмотрено, что в воде водных объектов должен содержаться растворенный кислород в количестве не менее 4—6 мг/л. Поэтому применительно к натурным условиям при благоприятном санитарном режиме водного объекта без заметного ущерба для санитарного состояния водного объекта может быть использовано не более 1—2 мг/л кислорода. Тогда пороговая концентрация вещества ориентировочно может быть рассчитана по формуле:

$$ПК_{сан.} = \frac{2}{A}, \text{ где}$$

$A$  - количество кислорода на 1 мг изучаемого вещества.

Поскольку эта формула не в полной мере отражает реальное влияние сточных вод на санитарный режим водных объектов, предложена более точная формула:

$$БПК_{полн.к} = \frac{БПК_{оп} \cdot q \cdot 10^{-k} + БПК_k \cdot Q \cdot 10^{-k}}{a \cdot Q + q}, \text{ где}$$

$Q$  - расход воды водного объекта, м<sup>3</sup>/с;

$q$  - расход сточных вод, в составе которых сбрасывается нормируемое соединение, м<sup>3</sup>/с;

$a$  - коэффициент смешения сточных вод с водой водного объекта.

7.9.4. Для расчетного прогноза условий спуска сточных вод, содержащих вещества, нормируемые по общесанитарному признаку вредности и стимулирующие потребление

кислорода, важно определение константы скорости потребления кислорода:

$$K = \frac{1}{t} \cdot \lg \frac{БПК_t}{БПК_{2t} - БПК_t}, \text{ где}$$

БПК<sub>t</sub> и БПК<sub>2t</sub> - биохимическое потребление кислорода для 2-х сроков инкубации, кратных между собой;

*K*- искомая константа скорости;

*t* - время, сут.

## **8. Установление параметров токсичности веществ в острых опытах на животных**

Установление смертельных эффектов позволяет получить необходимую информацию для решения ряда задач:

- определение параметров токсичности и опасности вещества при однократном (кратковременном) воздействии, а также получение первичной информации о характере и направленности действия;
- сравнительная оценка токсичности нескольких веществ, близких по физико-химическим свойствам или по условиям применения;
- установление видовой, половой и возрастной чувствительности лабораторных животных к действию вредного вещества;
- получение предварительной информации о способности вещества к материальной и/или функциональной кумуляции;
- сравнительная оценка токсичности исходного вещества и продуктов его трансформации в водной среде;
- получение информации, необходимой для выбора доз, исследуемых в подостром и хроническом экспериментах;
- определение правомерности применения корреляционных уравнений количественной зависимости «структура-активность» для прогноза параметров токсикометрии изучаемого вещества;
- установление зависимости «доза-ответ» и расчет средней смертельной дозы DL<sub>50</sub>.

Доза средняя смертельная - это количество яда, вызывающее гибель 50 % группы подопытных животных за определенный период последующего наблюдения. Поскольку DL<sub>50</sub> является статистической величиной, определяются также средняя ошибка и доверительные интервалы.

Другие показатели, например, DL<sub>100</sub> (наименьшая доза, вызывающая гибель всех взятых в опыт животных) и DL<sub>0</sub> (максимальная переносимая доза) определяются эмпирически, а не статистически, и поэтому могут использоваться как дополнительные ориентировочные величины.

8.1. Вещество изучается при следующих путях поступления в организм: при введении в желудок, нанесении на кожу.

Токсичность при внутрижелудочном введении определяется в опытах на животных (белых мышах массой 18—24 г, белых крысах массой 180—240 г, половозрелых морских свинок массой 350—500 г, кроликах массой 1,5—3,0 кг).

8.2. Выбор доз для исследования осуществляется:

- по аналогии с данными о токсичности близких по структуре веществ;
- расчетным путем по математическим моделям;
- в ориентировочном эксперименте.

В ориентировочном эксперименте устанавливается зона смертельного действия - отношение абсолютной смертельной дозы к минимальной смертельной или максимальной переносимой. Затем выбирается ряд доз, например, в соответствии с рядами Фульда:

1,0; 1,3; 1,8; 2,4; 3,2; 4,2; 5,6; 7,5; 10,0; 13,0

1,0; 1,3; 1,7; 2,1; 2,8; 3,6; 4,6; 6,0; 7,7; 10,0; 13,0

1,0; 1,3; 1,6; 2,0; 2,5; 3,2; 4,0; 5,0; 6,3; 8,0; 10,0

Ориентировочная DL<sub>50</sub> может быть установлена методом одной-двух точек или путем испытания ряда последовательных доз на 1—2 подопытных животных.

8.3. Количество животных в развернутом опыте должно быть достаточным для

статистических расчетов. Каждая доза испытывается не менее, чем на 10 белых мышах, белых крысах, на 6 морских свинках, кроликах и других животных.

8.3.1. Вещество в каждой из выбранных доз (а для соединений 3 и 4 классов стабильности и ранее не нормированные продукты трансформации) вводится с помощью зонда однократно в водном растворе, при малой растворимости в воде - в растительном масле. Может быть применен «универсальный» растворитель - диметилсульфоксид. Труднорастворимые, вязкие, смоло-, порошкообразные вещества можно вводить в виде взвесей или эмульсии в яичном желтке, 1—2%-ном растворе крахмала, с добавлением нетоксичных поверхностно-активных веществ. В отдельных случаях допустимо использование других растворителей: этанола, глицерина, полипропиленгликоля и т.п. Обязательное условие - введение контрольным животным используемого растворителя в эквивалентных количествах.

8.3.2. Для создания необходимых доз предпочтительнее вводить разные объемы раствора вещества одной концентрации. Вместе с тем, объем водных растворов не должен превышать 1—1,5 %, а масляных - 0,5—1 % от веса тела. Вещество вводится через 2—3 часа после кормления. Через 3—4 часа после введения вещества допускается очередное кормление животных.

8.3.3. Максимальная вводимая доза в желудок - 10 г/кг. При испытании малотоксичных веществ, не приводящих к гибели при однократном введении, допустимо вводить вещество несколько раз в максимально возможной концентрации в объеме  $\leq 5\%$ , а масляные растворы до 2 % от веса тела с интервалом между введениями не менее 1,5 часов. Следует учитывать и предотвращать возможное местное раздражающее действие веществ, испытывать нейтрализованные растворы при условии, что это не приведет к разрушению и трансформации структурной части молекулы, определяющей токсичность вещества.

8.4. Наблюдение за животными продолжается в течение 14 дней после введения вещества. Фиксируется время гибели каждого животного (в первые сутки - в часах), общее количество погибших. Результаты заносятся в таблицу (табл. 8.1). Подробно описывается клиническая картина отравления, желательны - морфологические изменения внутренних органов и тканей. Делаются предварительные выводы о характере токсического действия вещества.

Таблица 8.1

**Динамика гибели животных после однократного введения вещества в различных дозах**

Дозы, мг/кг	Число животных в группе	Число погибших животных по срокам наблюдения в часах (сутках)				Общее число погибших животных	% гибели

8.5. Токсичность при накожном нанесении изучается согласно [1].

8.6. Расчет  $DL_{50}$  и доверительного интервала может проводиться любым из статистических методов, т. к. различия между величинами по результатам расчета значительно меньше, чем по экспериментальным данным, полученным в разных условиях. Более точным считается метод Литчфилда-Уилкоксона.

8.7. Для веществ из малоизученных классов необходимо определять сравнительную половую и видовую чувствительность на 4-х видах лабораторных животных, для остальных веществ - на 2-х видах. Определение острой токсичности на морских свинках, кроликах, кошках (в особых случаях) допустимо методом 1—2 точек. Метод дает возможность рассчитать ошибку и доверительные интервалы величин  $DL_{50}$ .

8.8. Для получения сопоставимых результатов целесообразно стандартизовать условия эксперимента по виду, полу, возрасту, условиям содержания животных. С другой стороны, не следует чрезмерно уточнять их путем увеличения числа животных, уменьшения шага между дозами, усложнения методов расчета.

8.9. При оценке результатов острых опытов могут использоваться классификации токсичности, представленные в таблице 8.2.

Кроме того, необходим анализ кривых «доза-ответ», которые могут соответствовать не только функции нормального распределения, но и гиперболе, параболе, экспоненциальной кривой. Угол наклона кривых к оси абсцисс может дать информацию об общности или,

наоборот, резких различиях в механизме токсического действия ряда веществ или на различные виды животных.

Пологая кривая чаще всего свидетельствует о плохом всасывании, быстром выведении или трансформации, или о наличии резких различий в индивидуальной чувствительности. Выраженная крутизна наклона свидетельствует об активном всасывании, быстром развитии токсического эффекта, а также о незначительных различиях в индивидуальной чувствительности.

Таблица 8.2

### Классификация токсичности по смертельным эффектам

Показатели токсикометрии, мг/кг	Классы токсичности			
	1	2	3	4
1. DL <sub>50</sub> в/ж	<100	100—1000	1001—10000	>10000
2. DL <sub>50</sub> при нанесении на кожу	<100	100—500	501—2500	>2500

8.10. Дополнительно по данным острого опыта рассчитываются параметры, дающие первое представление о способности веществ к кумуляции: среднее время гибели (TL<sub>50</sub>) и индекс кумуляции [1].

8.10.1. Для определения TL<sub>50</sub> сопоставляется рабочая таблица, аналогичная таблице учета результатов острого опыта, сроки гибели животных выражаются в часах. По таблице подсчитывается суммарное время гибели животных от каждой из испытанных доз ( $\Sigma t$ ), из которых находят среднее время гибели одного животного ( $t_n$ ) по формуле:  $t_n = \Sigma t/n$ , где  $n$  - общее количество животных, погибших от данной дозы. TL<sub>50</sub> рассчитывают теми же статистическими методами, что и среднесмертельную дозу или строят прямоугольную систему координат (в логарифмическом масштабе), откладывая по оси абсцисс время гибели животных (в часах), а по оси ординат - изученные в опыте дозы вещества (в мг/кг). На график наносят точки, соответствующие ранее найденным значениям  $t_n$  и через них проводят прямую, по которой находят TL<sub>50</sub> - время гибели животных от дозы, равной DL<sub>50</sub>.

Таблица 8.3

### Классификация веществ по способности к кумуляции в острых опытах

Степень кумуляции	Показатели кумуляции		Прогноз МНД по индексу кумуляции
	I	TL <sub>50</sub> , ч	
1. Сверхкумуляция	>0,5	>48	1/250000 DL <sub>50</sub>
2. Сильная	0,1—0,5	>24—48	1/50000 DL <sub>50</sub>
3. Средняя	<0,1	12—24	1/10000 DL <sub>50</sub>
4. Слабая	0	<12	1/2000 DL <sub>50</sub>

По таблице 8.3 определяют, к какому классу по способности к кумуляции относится вещество. Если TL<sub>50</sub> находится в пределах 12—48 часов, допустимо применять расчетные уравнения для прогноза ПД<sub>хр</sub> и МНД в соответствии с [4].

8.10.2. Для определения индекса кумуляции рассчитываются величины DL<sub>50</sub> за 1 сутки ( $D_1$ ) и по результатам гибели животных в течение всех 14 дней опыта ( $D_2$ ). Затем определяют  $I$ :

$$I = 1 - D_2 / D_1$$

Классификация способности веществ к кумуляции и ориентировочные величины МНД приведены в таблице 8.3.

## 9. Порог вредного действия при однократном поступлении вещества в организм

Цели исследований:

- определить верхний предел доз для подострого эксперимента и оптимальное время

наблюдения после введения вещества;

- получить характеристику кумулятивных свойств;
- при необходимости - изучить токсикокинетику и процесс детоксикации вещества;
- рассчитать зону острого действия.

9.1. Порог однократного действия определяется на белых крысах по интегральным и специфическим показателям с обязательным определением изменений в динамике в течение суток (или нескольких суток - в зависимости от  $TL_{50}$ ). Время первого определения устанавливается, исходя из клинической картины отравления в остром опыте, но не позднее двух часов, затем, например, через 4—6—12—24 часа после затравки, а также через 2—4 и 8 дней после нее. Возможны и другие сроки наблюдения с учетом токсикодинамики и/или токсикокинетики. Порог однократного действия может быть установлен эмпирически или рассчитан как вероятностная величина ( $Lim_{ac}$ ) или дополнен результатами токсикокинетических исследований.

9.2. Для специальных научных целей можно определить кинетику накопления и выведения вещества и/или его метаболитов в организме.

9.3. На основании исследования зависимости «время-эффект» можно определить время полуубыли ( $\tau$ ) регистрируемого эффекта по формуле:

$$\tau = \frac{-0,693}{2,3} \cdot \frac{(t_i)^2 - n(t_i)^2}{(t_i) \cdot (\lg E_i)^{-n} \cdot (TL_{50} \cdot \lg E_i)}, \text{ где}$$

$E_i$  - среднее значение степени эффекта (в % к параллельному контролю) в моменты времени  $t_i$  ( $i = 1; 2; \dots; n$ );

0,693 - натуральный логарифм из 2;

2,3 - коэффициент перехода от натуральных логарифмов к десятичным.

Степень кумуляции определяют по величине  $\tau$ : при  $\tau < 12$ , 12—24, 24—48 и  $> 48$  часов кумулятивные свойства оценивают как слабые, средние, сильные и очень выраженные соответственно.

9.4. Пример определения пороговой дозы однократного действия в опыте с ацетонциангидрином (АЦГ).

При выборе доз и сроков наблюдения исходили из результатов острого опыта:

$LD_{50} = 18,5$  (16,9 : 20,3) мг/кг,  $TL_{50} = 85$  мин. Первые признаки отравления появлялись через 10—15 мин после введения ацетонциангидрина. Эти данные свидетельствуют о быстром развитии токсического процесса и слабо выраженной кумуляции.

Поэтому выбран минимальный интервал между дозами. Вещество вводилось однократно белым крысам в дозах, составляющих 1/5, 1/10, 1/15, 1/20 и 1/45  $DL_{50}$ . Отбор исследуемого материала /кровь, печень/ производили через 15, 30 мин, 1, 2, 4 и 6 часов после введения АЦГ. Контролем служили интактные животные. Поскольку механизм токсического действия цианидов хорошо известен, исследовались только специфические показатели: содержание оксигемоглобина и роданидов в крови, активность цитохромоксидазы печени. Установлено, что максимальный токсический эффект (пик содержания оксигемоглобина и снижение активности цитохромоксидазы) для доз 1/5, 1/10, 1/15  $DL_{50}$  наблюдается через 30 мин после введения вещества, а с уменьшением дозы (1/20, 1/45  $DL_{50}$ ) срок достижения наибольших изменений увеличивается до 1 часа. Получены кривые зависимости «время-эффект» для разных доз.

По наиболее чувствительному показателю (изменению активности цитохромоксидазы) установлен порог однократного действия  $Lim_{ac}$ , равный 1/45  $DL_{50}$  (0,41 мг/кг). Зона острого действия  $DL_{50} / Lim_{ac} = 45$ . Это доказывает, что способность АЦГ к кумуляции слабо выражена.

Исходя из полученных данных, для подострого эксперимента были выбраны дозы  $< Lim_{ac}$ , т.е. 0,4; 0,08; 0,015 мг/кг с пятикратным шагом между ними.

## 10. Изучение действия вещества на организм в условиях подострого опыта

Подострые опыты могут проводиться с целью:

- выявления различными методами способности веществ к кумуляции;
- получения данных для обоснования класса опасности вещества, необходимости оценки хронической токсичности, выбора доз и тестов при планировании хронического опыта.

Подострый эксперимент является центральным звеном в гигиенических исследованиях, от его результатов зависит решение вопроса о необходимости и целесообразности дальнейших исследований вещества и их планирование. В условиях подострого опыта могут оцениваться и продукты трансформации веществ 3 и 4 классов стабильности в случае, если они не изучались

ранее или химически не идентифицированы, а в острых экспериментах оказались токсичнее исходного соединения.

10.1. Наибольшую информативную ценность представляет подострый эксперимент, направленный на установление параметров токсикометрии в условиях, вызывающих не явные признаки нарушения жизнедеятельности организма, а изменения функциональных показателей, близкие к пороговым (в отличие от методов оценки кумуляции Ю. С. Кагана и В. В. Станкевича; Lim et al; Б.М. Штабского, использующих дозы, приводящие к смертельному эффекту).

Подострый эксперимент позволяет:

- изучить токсикодинамику в рамках зависимости «доза-эффект» во времени;
- определить характер (механизм) токсического действия; наиболее поражаемые функции, органы, системы организма;
- установить пороговую дозу подострого эксперимента ( $ПД_{пэк}$ );
- выявить способность вещества к кумуляции;
- рассчитать зону кумулятивного действия;
- установить класс опасности по кумуляции;
- прогнозировать пороговую дозу хронического действия ( $ПД_{хр.}$ ).

10.1.1. В эксперименте изучается не менее 3 доз вещества. Выбор доз осуществляется на основе прогноза  $ПД_{хр.}$  и МНД с использованием математических моделей согласно п. 3.2.2., а также результатов определения  $Lim_{ac}$  (раздел 9) [1,4].

Шаг между дозами определяется кумулятивностью вещества: 3—5-кратный - для 3—4 классов, 5—10-кратный - для 1—2 классов кумуляции.

10.1.2. Исследования проводятся, как правило, на белых крысах.

При выраженных (более 5 раз) различиях в видовой чувствительности обязательны дополнительные исследования на наиболее чувствительном виде животных. Вид подопытных животных определяется также особенностью биологических эффектов изучаемого вещества. Например, для изучения аллергенного эффекта используются морские свинки, для выявления мутагенного эффекта - специальные линии белых мышей, определения влияния на микрофлору кишечника - белые крысы и т. п.

10.1.3. Вещества вводятся в виде водного раствора внутривентрикулярно (белые крысы) или перорально (кролики, морские свинки). Допустимо введение веществ в растительном масле или растворе крахмала. Если вещество хорошо растворяется в воде и не вызывает изменения ее органолептических свойств, предпочтительнее использовать автопоилки с ежедневным определением количества выпитого раствора. При понижении водопотребления по сравнению с контрольными животными, следует переходить на активное запаивание (внутрижелудочное введение). Введение веществ ежедневное, включая выходные дни.

10.1.4. Длительность опыта - не менее 30 дней. Однако опыт может быть продлен до 2—3 месяцев, если известно, что изучаемый препарат вызывает изменение замедленно реагирующих систем, например, липидного обмена, костной системы, обмена кальция и т. п.

10.1.5. Точность и надежность обоснования гигиенического норматива в основном определяется адекватностью функциональных показателей, выбранных для оценки состояния организма животных в подостром (а затем, в хроническом) эксперименте. Поскольку невозможно рекомендовать универсальный перечень таких показателей в силу специфичности действия отдельных веществ на организм, комплекс изучаемых показателей должен быть тщательно обоснован в каждом подостром эксперименте. Выбор показателей осуществляется с учетом всех имеющихся данных о механизме токсического действия вещества и его структурных аналогов [5, 6, 7, 8]. Желательно, чтобы выбранные показатели отражали состояние крови, печени, почек, центральной нервной системы, функции наиболее поражаемых органов.

После снятия фоновых значений показателей наблюдения проводятся на 5—10—20 и 30 сутки опыта. Если не определялся порог однократного действия, необходимо исследование в 1 сутки. Если продолжительность опыта превышает 30 дней, последующие снятия значений показателей функционального состояния организма животных проводятся каждые 2 недели.

10.1.6. В подостром опыте применяются дополнительные функциональные (физическая, термическая и т. п.) или материальные (амидопириновая, гексеналовая и т. п.) нагрузки; однократно в конце опыта или через каждые 2 недели. Нагрузка должна в наибольшей мере соответствовать механизму действия вещества.

Наиболее предпочтительна нагрузка изучаемым веществом в конце эксперимента в дозах, превышающих порог однократного действия в 2—5 раз в зависимости от способности к

кумуляции.

10.2. В конце подострого опыта определяется  $ПД_{пзк}$  - доза вещества, при энтеральном поступлении которой в организм в течение 30 дней возникают минимальные, но диагностически значимые изменения функциональных показателей состояния организма животных. При этом важна дифференциация закономерных и случайных проявлений токсического действия веществ.

10.2.1. Необходимо использовать следующие диагностические критерии  $ПД_{пзк}$ :

- комплексный анализ зависимости «доза-эффект» во времени для не менее 3 доз веществ, различающихся в 3—10 раз;
- учет изменений небольшого числа или даже одного показателя, если он отражает особенности механизма токсического действия изучаемого или близких по структуре соединений;
- ориентация на минимальные сдвиги значений функциональных показателей, наблюдаемые неоднократно (не менее 2-х раз) в течение эксперимента;
- учет тенденции к изменениям, даже при отсутствии статистически достоверных различий с контролем, если они относятся к жизненно важным показателям;
- наличие экспериментально установленной недействующей дозы подострого опыта как дополнительного критерия пороговости.

10.2.2. Статистическими критериями пороговой дозы служат показатели достоверности отличий от контроля ( $t$  - критерий Стьюдента, отношения дисперсий по критерию  $F$  и др.). Необходимо проверять правомерность применения этих критериев, т. е. соответствие изучаемой выборки закону нормального распределения. В противном случае применяются другие методы статистической обработки, в т. ч. непараметрические.

При выборе количественного критерия значимости отклонений от нормы (контроля) (5%, 1%, 0,1%) учитывается биологическая значимость показателя, степень «пластичности», патогенетического соответствия. Кроме того, чем опаснее для жизнедеятельности организма выявленный эффект или чем важнее сфера применения вещества и шире контакт с населением, тем статистически менее значимые сдвиги значений показателя по сравнению с контролем следует принимать во внимание.

10.2.3. Для большей надежности при установлении  $ПД_{пзк}$ , следует применять комплексный диагностический подход с оценкой адаптационных возможностей организма, в частности, по реакции на материальную или функциональную нагрузку. Дополнительно могут использоваться также изучение соотношения между показателями индивидуально у каждого животного, учет дискоординации сопряженных функций, определение безвредных доз на основе зависимости «доза-статус организма».

10.3. После установления  $ПД_{пзк}$  определяется способность веществ к кумуляции по отношению  $DL_{50}/ПД_{пзк}$ , класс опасности и коэффициент  $J$  для прогноза пороговой дозы хронического действия (табл. 10.2). Выбор коэффициента ( $J_1, J_2, J_3$ ) осуществляется в зависимости от степени изученности характера токсического действия вещества и структурного ряда, к которому оно принадлежит.

Таблица 10.2

**Оценка опасности и прогноз пороговой дозы веществ  
по результатам подострого опыта**

Классы опасности	Кумуляция по отношению $DL_{50}/ПД_{пзк}$	Коэффициент для расчета $ПД_{кр.}$ по $ПД_{пзк}$		
		$J_1$	$J_2$	$J_3$
1. Чрезвычайно опасные	$\geq 10000$	20	100	не прим.
2. Высокоопасные	$\geq 1000$	5	10	100
3. Умеренно опасные	$\geq 100$	3	5	25
4. Малоопасные	$\geq 10$	2	3	10

## 11. Проведение хронического санитарно-токсикологического опыта

Хронический опыт проводится в случаях, указанных в главе 3, п. 3.2.5. Кроме того, хронический опыт проводят, если в подостром опыте выявлены новые виды эффектов, развитие которых соизмеримо с длительностью жизни, например, изменение костной системы, героэффект.

Цель хронического опыта - установить пороговую и максимальную недеиствующую дозы веществ при длительном воздействии на организм.

11.1. Основным ориентиром при выборе доз для хронического эксперимента является расчет  $ПД_{хр.}$  по  $ПД_{пэк}$  (табл. 10.2). Если же подострый эксперимент не был проведен, дозы и подопытные животные выбираются в соответствии п.п. 10.1.1, 10.1.2, 10.1.3.

11.2. Длительность опыта обычно составляет 3 месяца, но в случаях, указанных в п. 3.2.5, продлевается до 6—12 месяцев в зависимости от способности вещества к кумуляции, измененных показателей и задач исследований. Определение показателей в течение первого месяца - 2—3 раза, затем - ежемесячно.

11.3. Выбор показателей для оценки функционального состояния организма животных зависит от информации, полученной в подостром эксперименте:

- если в течение 30 дней удалось четко определить характер, механизм токсического действия веществ, то в хроническом опыте используется минимальное количество тестов, отражающих изменение наиболее чувствительных органов и систем;
- если характер токсического действия остался неясным, применяется широкий набор тестов, характеризующих функции различных органов и систем с тем, чтобы в ходе эксперимента выявить наиболее поражаемые из них.

В остальном выбор показателей для исследования проводится в соответствии с п.п. 3.2.5, 3.2.6 и 10.1.5.

Обязательным разделом является применение дополнительных нагрузок.

11.4. Изучение отдаленных эффектов и кожно-резорбтивного действия проводится согласно [1]. При наличии данных МАИР о принадлежности изучаемого вещества или веществ, близких по структуре, к канцерогенам, обоснование ПДК проводится с учетом этой особенности биологического действия.

По показаниям также определяется пороговая доза вещества по аллергенному эффекту.

11.5. Важным дополнительным разделом исследования является изучение накопления веществ в органах, процессов метаболизма в начале и в конце интоксикации. Эти данные могут использоваться при обосновании «биологических нормативов», рекомендаций о тест-экспозициях для изучения влияния реального загрязнения окружающей среды на население, сравнительной оценки опасности вещества и продуктов трансформации и т. п.

11.6. На основании хронического эксперимента определяется пороговая доза ( $ПД_{хр.}$ ). Критерии пороговой дозы те же, что в п. 10.3, дополнительный принцип - сопоставимость результатов подострого и хронического экспериментов.

11.7. Расчет МВД хронического опыта проводится исходя из величины  $ПД_{хр.}$  с использованием коэффициентов запаса в зависимости от выраженности кумулятивных свойств и способности вещества вызывать отдаленные эффекты по таблице 11.1. Определяется также допустимая суточная доза при пероральном поступлении (ДСД). Если вещество является летучим, легко проникающим через кожу и достаточно широко распространено в окружающей среде, МНД устанавливается в процентах от допустимой суточной дозы в соответствии с существующими методиками и рекомендациями.

Таблица 11.1

**Коэффициенты запаса ( $K_3$ ) для расчета МНД по величине ПД**

Класс опасности	$K_3$ в зависимости от кумуляции		$K_3$ в зависимости от способности вызывать отдаленные эффекты		
	$DL_{50}/ПД$	$K_3$ от ПД общетоксич. действия	$Z_{sp}$	$K_3$ от ПД по влиянию на гонады	$K_3$ от ПД по влиянию на эмбриогенез
I. Чрезвычайно опасные вещества	$\geq 10^5$	10	1	10	

2. Высокоопасные вещества	$10^5—10^3$	5	0,1—1,0	5	10
3. Умеренно опасные вещества	$10^3—10^2$	3	0,01—0,1	3	
4. Малоопасные вещества	$\leq 10^2$	3	0,01	3	

## 12. Обоснование величины ПДК (ОДУ) веществ в воде

Для обоснования величины ПДК (ОДУ) исследуемого вещества в воде сопоставляются пороговые величины по органолептическому и общесанитарному признакам вредности и максимальная недействующая концентрация по токсикологическому признаку вредности (МНК).

12.1. МНК рассчитывается из величины МНД с учетом среднего веса человека и суточного водопотребления, включающего питьевую и используемую для приготовления пищи (чай, кофе) воду, по формуле:

$$МНК(мг / л) = \frac{МНД(мг / кг) \cdot М(кг)}{V(л)} = МНД \cdot K, \text{ где}$$

$M$  - средняя масса взрослого человека;

$V$  - объем суточного водопотребления;

$K$  - обобщенный коэффициент пересчета МНК по МНД.

Средний вес взрослого человека равен 60 кг, а суточное водопотребление составляет 3 л. С учетом этих количественных соотношений, МНК рассчитывают по формуле:

$$МНК = МНД \cdot 20$$

12.2. Величина МНК сопоставляется с пороговыми концентрациями по органолептическому и общесанитарным признакам вредности, и наименьшая из них принимается в качестве ПДК (ОДУ) с указанием соответствующего (органолептического, общесанитарного, санитарно-токсикологического) признака вредности.

12.3. Если вещество относится к 3 или 4 классу стабильности и выявлено образование продуктов трансформации в большей степени, чем исходное соединение, влияющих на качество воды, то:

- при неустановленной химической природе продуктов трансформации нормируется исходное вещество и вводится поправочный коэффициент, снижающий ПДК исходного вещества во столько раз, во сколько повышается опасность продуктов трансформации по сравнению с этим веществом;
- для химически идентифицированных продуктов трансформации должны быть обоснованы собственные гигиенические нормативы в соответствии с рекомендациями раздела 13.

12.4. Класс опасности устанавливается по таблице 3.1 с учетом корректив, вносимых согласно классу стабильности (табл. 5.1).

12.4.1. Для чрезвычайно стабильных веществ, способных к биоаккумуляции в трофических цепях, класс опасности по токсикогигиеническим показателям изменяется на единицу. Например, вещество 2-го класса опасности, но чрезвычайно стабильное (1-й класс стабильности) относят к 1-му классу опасности. При установлении величины  $K_3$  вводится дополнительный коэффициент запаса, равный 10.

12.4.2. Если вещество отнесено к стабильным (2-й класс), класс опасности остается неизменным, но в величину ПДК вводится дополнительный коэффициент запаса  $K_3 = 5$ .

## 13. Нормирование препаратов смешанного состава

С позиций гигиены воды и санитарной охраны водоемов можно различать смеси веществ, поступающих в воду из различных источников (имеющих различное происхождение и в силу этого образующих смеси переменного состава); смеси, формирующиеся непосредственно в воде из исходно одиночных соединений в результате процессов трансформации (включая диссоциацию электролитов), а также технологические смеси заводского изготовления или природного происхождения, состав которых регламентируется техническими условиями (ТУ), ГОСТами, официальными формами лекарств и др. (смеси фиксированного или относительно

постоянного количественного состава). Строго говоря, с тех же позиций к смесям веществ должны быть отнесены также все одиночные химические соединения, лекарства, содержащие примеси и/или добавки, технические препараты с одним действующим началом или реактивы, классифицируемые в химии по чистоте как «ч.», «ч. д. а», «х. ч», «ос. ч».

13.1. Гигиенически значимые характеристики многокомпонентных технологических смесей могут зависеть от наличия в составе таких компонентов, относительное содержание которых не превышает десятых долей процента. Поэтому технологические смеси подлежат изучению и регламентации в воде как самостоятельный объект гигиенического нормирования.

13.2. Согласно действующему санитарному законодательству, регламентация смесей веществ в воде водных объектов может быть проведена лишь при наличии ТУ и ГОСТов на их состав (фармакологических прописей). В этих документах, кроме того, должны быть приведены характеристики агрегатного состояния и стабильности смеси, ее растворимости в воде, другие известные физико-химические константы смеси и, по возможности, ее компонентов.

13.3. Технологические смеси постоянного (фиксированного) состава подлежат изучению как одно вещество, с установлением суммарных пороговых концентраций веществ, действующих в составе смеси, по влиянию на органолептические свойства воды и санитарный режим водоемов, а также суммарных максимальных неэффективных доз по общетоксическим и специфическим эффектам. На этой основе устанавливаются, как обычно, лимитирующий признак вредности и класс опасности изучаемой смеси. Суммарная нормативная величина, найденная по лимитирующему признаку вредности, предназначена для использования при решении вопросов предупредительного санитарного надзора, для расчета ПДС и т. д., т. е. может использоваться в качестве ОДУ.

13.4. Для обоснования ПДК требуется решить вопрос о выборе соответствующих индикаторных веществ. Под индикаторным веществом понимается компонент смеси, по которому следует проводить аналитический контроль за реальным содержанием нормируемой смеси в воде в пределах суммарного норматива. Выбор индикаторного вещества проводится на основе критериев и принципов, приведенных ниже в порядке приоритетности:

- выявление наиболее токсичных и опасных компонентов и/или продуктов их трансформации;
- изучение сравнительной стабильности компонентов смеси в воде, в т. ч. по показателям биоразлагаемости;
- учет относительной массы (процентного содержания) веществ, входящих в состав смеси;
- учет компонентов, определяющих технологическое предназначение препарата;
- наличие метода определения индикаторного вещества в воде.

Учитывают также характеристики биологической активности компонентов по данным литературы или по химической структуре, общие закономерности биотрансформации в организме и превращений в воде.

Особое внимание уделяется продуктам трансформации, которые могут оказаться более токсичными и опасными, чем компоненты смеси. Если в состав смеси входят одно или более веществ, ранее не изученных по токсикологическим и гигиеническим критериям, необходимо дополнительное изучение этих веществ с целью обоснования ПДК или ОДУ - особенно тогда, когда такое вещество может выступать как индикатор смеси.

13.5. В составе суммарной нормативной величины (ПДК, ОДУ) рассчитывают удельные нормативы компонентов пропорционально их процентному содержанию в исходном составе смеси с учетом долевого вклада в расчете на весовое значение суммарного норматива (например, суммарный норматив смеси, состоящей из 80 % вещества А и 20 % вещества В, составляет 0,5 мг/л; тогда удельные нормативы этих веществ соответственно равны 0,4 и 0,1 мг/л). В простейшем случае цель нормирования смеси может быть достигнута тогда, когда удельный норматив индикаторного вещества совпадает с его существующей индивидуальной ПДК (в особенности при одном и том же лимитирующем признаке вредности). Практически совпадающими можно считать значения удельной и индивидуальной ПДК у конкретного вещества, различающиеся между собой не более, чем в 3 раза. В остальных случаях целесообразен выбор других индикаторных веществ, исходя из тех же (указанных выше) принципов. В некоторых ситуациях необходимы рекомендации по изменению рецептуры смеси. Когда удельный норматив потенциального индикаторного вещества в 5—10 раз ниже его индивидуальной ПДК, следует изучить относительную роль компонентов в их совокупности для подтверждения более чем аддитивного действия.

13.6. Если состав смеси расшифрован не полностью, но все ее компоненты связаны единством происхождения (например, лекарственные средства природного происхождения),

такие смеси в принципе могут быть изучены и регламентированы аналогичным образом, но с учетом следующих особенностей:

- целесообразно расширить набор интегральных показателей токсичности;
- обязательно исследовать отдаленные (специфические) проявления токсичности смеси;
- дополнительно может быть изучен характер комбинированного действия веществ (в особенности в тех случаях, когда лимитирующим признаком вредности смеси как таковой является санитарно-токсикологический).

13.7. Гигиенические нормативы для препаратов, смесей веществ сложного постоянного состава должны быть внесены в общий перечень ПДК, ОДУ с указанием регламентирующего документа (ТУ, ГОСТ) на состав, суммарной нормативной величины, лимитирующего признака вредности и класса опасности смеси, а также индикаторного вещества (или веществ) и его контрольного уровня.

## 14. Нормирование веществ с учетом особенностей их применения

14.1. Особенности нормирования лекарственных средств зависят от их фармакологических свойств.

С гигиенических позиций лекарственные средства, с учетом технологии производства и применения, могут быть условно разделены на 5 классов:

- лекарственные средства с преимущественным действием на функциональное состояние отдельных органов и систем (1-й класс);
- химиотерапевтические средства, например, сульфаниламиды, антибиотики (2-й класс);
- препараты, влияющие на обмен веществ, витамины, адаптогены, эссенциальные средства (3-й класс);
- препараты для наружного применения (4-й класс);
- полупродукты синтеза фармакологических препаратов (5-й класс).

Для каждой из перечисленных групп требуются дополнительные или уточняющие методические подходы.

14.1.1. При нормировании веществ 1-го класса следует рассматривать терапевтические дозы как действующие и изучать в подострых и хронических опытах дозы более низкие, чем терапевтические. Методы исследования должны включать как показатели, связанные с механизмом терапевтического действия, так и характеризующие побочные эффекты, противопоказания. Обязательно применение специфических дополнительных нагрузок.

14.1.2. При нормировании веществ 2-го класса - химиотерапевтических средств - следует учитывать их малую токсичность наряду с высокой антимикробной и сенсibiliзирующей активностью, что обуславливает необходимость изучать дисбиотическое действие на микробиоценоз у подопытных животных и аллергические реакции.

Принимая во внимание то, что антибиотики и сульфаниламиды часто и длительно используются населением для лечения и в т. ч. самолечения, необходимо в подострых и хронических опытах применять чередующиеся нагрузки изучаемым веществом в терапевтических дозах по системе, адекватной схеме лечения человека, но с учетом отличий длительности жизни и скорости обменных процессов у животных.

При изучении влияния химиотерапевтических средств на процессы естественного самоочищения водоемов необходимо уделить внимание динамике роста и отмирания сапрофитной микрофлоры.

14.1.3. При гигиеническом нормировании препаратов 3-го класса т. е. соединений, влияющих на обмен веществ, необходимо оценивать соотношение «полезного - вредного - оптимального индифферентного» уровней. Общепринятая стандартная схема исследований при нормировании витаминов без учета их биологической значимости для организма, без контроля за содержанием их в рационе питания недопустима.

При планировании исследований по нормированию ряда лекарственных средств, особенно гормонов, наркотических и других лекарственных средств группы А следует учитывать особенности поведения вещества в зависимости от пути поступления в организм, например, преобладающую активность при перкутанном воздействии отдельных групп гормонов.

14.1.4. При изучении токсичности препаратов наружного применения (4-й класс) наряду с общепринятой программой исследований обязательным дополнительным элементом является углубленное изучение местного раздражающего и кожно-резорбтивного действия.

14.1.5. При обосновании ПДК и ОДУ полупродуктов синтеза лекарственных средств (5-й класс) план исследований максимально приближается к общепринятому. Однако и в этом

случае полезно учитывать фармакологические свойства конечных продуктов.

14.1.6. Ускоренное нормирование лекарственных препаратов имеет ряд особенностей:

- широко применяемые в гигиене уравнения расчета для прогноза МНД, ПД<sub>хр.</sub> и ПДК в воде на основе DL<sub>50</sub> и ПДК рабочей зоны и др. неприменимы, т. к. не учитывают высокой специфичности и активности лекарств, а также в связи с тем, что они не входили в обучающие выборки при расчете уравнений;

- применение уравнений возможно при наличии закономерных математических связей для фармакологических средств и их полупродуктов, объединенных общим механизмом действия. При наличии ряда веществ с общим строением, механизмом действия и обоснованными нормативами допустимы расчеты новых регрессионных уравнений и нормирование по аналогии;

- основой для ускоренного нормирования лекарственных препаратов служит преимущественно экспресс-эксперимент, с последующим прогнозом пороговых доз на основе количественной оценки кумуляции, изоэффективных доз в 30-дневном опыте и ПД<sub>пнк.</sub>

14.2. Особенности нормирования поверхностно-активных веществ (ПАВ) связаны с широким распространением этих веществ и препаратов на их основе в промышленности и в быту. Поэтому один из ведущих критериев опасности ПАВ - биоразлагаемость.

14.2.1. Биоразлагаемость оценивается в соответствии с ГОСТом Р 50595—93. Параллельно идентифицируются продукты трансформации и определяется их относительная токсичность и опасность.

14.2.2. Учитывая особенности патогенеза интоксикации ПАВ влияние на липидный обмен, изменения которого происходят у лабораторных животных более, чем через 30 дней - длительность токсикологического эксперимента не может быть менее 3-х месяцев.

14.2.3. При нормировании катионных ПАВ изучение способности вызывать отдаленные и аллергенный эффекты обязательно.

14.2.4. Обоснование нормативов для препаратов, моющих средств, в состав которых входят ПАВ, проводят в соответствии с требованиями, касающимися нормирования смесей.

14.3. Реагенты, применяемые в водоочистке и водоснабжении, в т. ч. флокулянты, коагулянты, антинакипины, антикоррозионные средства и др. подлежат нормированию с обязательным обоснованием ПДК. Исследования обязательно должны включать следующие дополнительные разделы.

14.3.1. Определение содержания примесей в реагенте. Контролю подлежит содержание исходных и промежуточных продуктов синтеза, стабилизаторы, пластификаторы и т. д., устанавливается концентрация примесей в мг/кг продукта. При оценке опасности примесей исходят из предположения, что при растворении реагента в воде они полностью экстрагируются. Рассчитываются концентрации выявленных примесей, которые могут образоваться в воде при содержании в ней реагента на уровне 3—5 рабочих доз.

14.3.2. Анализ примесей, растворимых в воде. Для этого реагент растворяется в воде в концентрации, превышающей рабочую дозу в 3—5 раз. Время экспозиции 1—24 часа в зависимости от условий применения реагента и свойств примесей, которые предположительно могут экстрагироваться водой (растворимость, стабильность, летучесть). Результаты, представленные в мг/л воды, сопоставляются с ПДК или ОДУ обнаруженных веществ и оценивается опасность примесей или необходимость их нормирования.

14.3.3. Изучается стабильность реагента с обязательным определением продуктов трансформации под воздействием факторов, которым он реально подвергается в процессе водоподготовки и водоочистки. Особое внимание уделяется образованию продуктов трансформации при хлорировании воды.

14.3.4. Оценка результатов нормирования реагентов, применяемых в водоснабжении, осуществляется по следующим критериям:

- соотношение рабочих доз и величины ПК<sub>хр.</sub> по токсикологическому признаку вредности - если ПК<sub>хр.</sub> ниже 2—3-х кратной величины рабочей дозы, реагент не рекомендуется к применению;

- класс опасности - разрешается применять в качестве реагентов в водоснабжении только вещества 3—4 классов опасности;

- содержание примесей не должно превышать 1/2 их ПДК в расчете на 3-х кратную рабочую дозу.

## Сокращения и условные обозначения

ПДК - предельно допустимая концентрация  
 ОДУ - ориентировочный допустимый уровень  
 DL<sub>50</sub> - доза средняя смертельная  
 CL<sub>50</sub> - концентрация средняя смертельная  
 TL<sub>50</sub> - среднее время гибели животных  
 Lim<sub>ac</sub> - порог острого действия  
 ПД<sub>пэк</sub> (Lim<sub>subac</sub>) - пороговая доза подострого опыта  
 ПД<sub>хр.</sub> (Lim<sub>chr</sub>), (ПК<sub>хр.</sub>) - пороговая доза (концентрация) хронического опыта  
 ПД<sub>общ.</sub> (ПК<sub>общ.</sub>) - пороговая доза (концентрация) хронического опыта по общетоксическому эффекту  
 ПК<sub>орг.</sub> - пороговая концентрация по органолептическому признаку вредности  
 ПК<sub>сан.</sub> - пороговая концентрация по влиянию на санитарный режим водоема  
 МНД - максимальная недействующая доза хронического опыта  
 МНД<sub>общ.</sub> - максимальная недействующая доза хронического опыта по общетоксическому эффекту  
 МНД<sub>отд.</sub> - максимальная недействующая доза хронического опыта по отдаленным эффектам  
 МНК - максимальная недействующая концентрация  
 ДСД - допустимая суточная доза  
 БПК - биохимическое потребление кислорода  
 К<sub>з</sub> - коэффициент запаса для расчета МНД на основе ПД

### Список литературы

1. Альберт Э. Избирательная токсичность.—М.: Мир, 1971.
2. Гигиенические критерии состояния окружающей среды для отдельных веществ.—ВОЗ, Женева.
3. Гигиеническая оценка вредных веществ в воде.—СЭВ.—М., 1987.
4. Методическое руководство по биотестированию воды. ОД 118—02—90.—М., 1991.
5. Методические указания к экспериментальному изучению процессов трансформации химических веществ при их гигиеническом регламентировании в воде № 2966—84.
6. Методические указания по расчетным и экспресс-экспериментальным методам гигиенической оценки и нормирования химических веществ в воде № 01/10—11 от 4.08.92.
7. Токсикометрия химических веществ, загрязняющих окружающую среду — М.: ЦМП ГКНТ, 1986.
8. Шефтель В.О., Дышиневиц Н. Е., Сова Р. Е. Токсикология полимерных материалов.— Киев: Здоровье, 1988.

### Содержание

- Введение
1. Общие положения
  2. Нормативные ссылки
  3. Схема последовательного (этапного) обоснования нормативов веществ в воде
  4. Физико-химическая и производственно-технологическая характеристики вещества
  5. Оценка стабильности и трансформации веществ в водной среде
  6. Определение пороговых концентраций по влиянию веществ на органолептические свойства воды
  7. Экспериментальное установление пороговых концентраций веществ по влиянию на процессы самоочищения водных объектов
  8. Установление параметров токсичности веществ в острых опытах на животных
  9. Порог вредного действия при однократном поступлении вещества в организм
  10. Изучение действия вещества на организм в условиях подострого опыта
  11. Проведение хронического санитарно-токсикологического опыта
  12. Обоснование величины ПДК (ОДУ) веществ в воде
  13. Нормирование препаратов смешанного состава
  14. Нормирование веществ с учетом особенностей их применения

Сокращения и условные обозначения  
Список литературы