

О.М. РЕВЕГА, Н.М. ФІТЕЛЬ, Л.С. БОДНАР,
Ю.Б. КОЗУБ

Львівський національний університет ім. Івана Франка,
вул. Грушевського, 4, Львів, Україна, 79005
E-mail: o_reveha@franko.lviv.ua, Genotoxicology@narod.ru
http://www.Genotoxicology.narod.ru

ДОЦІЛЬНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ ПРИРОДНИХ СОРБЕНТІВ ДЛЯ ЗНЯТТЯ МУТАГЕННОСТІ РІДКИХ ФТОРОРГАНІЧНИХ ВІДХОДІВ ВИРОБНИЦТВА МОНОМЕРА ФС-141



Проведено дослідження щодо вивчення сумарних мутагенних ефектів у рідких фторорганічних відходах виробництва мономера ФС-141. Виявлено індукцію генних мутацій за механізмом заміни пар основ і зсуву рамки читування та індукцію хромосомних аберацій, а саме делецій і транслокацій. Вивчено доцільність використання природних сорбентів для зняття мутагенності фторорганічних відходів. Найефективнішими виявилися цеоліти та глауконіти.

© О.М. РЕВЕГА, Н.М. ФІТЕЛЬ, Л.С. БОДНАР,
Ю.Б. КОЗУБ, 2005

Вступ. Інтенсивна хімізація промисловості та широке використання хімічних речовин природного та антропогенного походження призвели до розширення можливості контакту людини з токсичними сполуками. Промислові викиди в навколишнє середовище України досягають щорічно 71 млн тонн, що складає 20–25 % сумарних викидів в цілому по країнах СНД. Із 68 міст СНД, які характеризуються стійким рівнем хімічного забруднення, кожне п'яте — це місто України [1, 2]. Це підтверджується численними даними по біоіндикації мутагенів у навколишньому середовищі. Серед небезпечних речовин є такі, що містять фтор, негативний вплив якого на живий організм у високих дозах є доведеним [3–5]. До специфічних проявів інтоксикації відносять зміни в мінеральному складі сироватки крові, що пояснюється взаємодією підвищених доз фтору з кальцієм, фосфором, залізом, магнієм та міддю, які у ролі кофакторів є компонентами ряду ферментативних систем [6, 7]. Такі біохімічні процеси можуть сприяти розвитку флюорозу [5].

На сьогоднішній день вже є недостатнім лише скринінг тих чи інших чинників на мутагенність. Необхідно шукати шляхи щодо зменшення мутаційного тиску. Не вивченими в плані корекції мутагенних ефектів є природні та синтетичні сорбенти. Разом з тим відомо, що завдяки своїм сорбційним властивостям сорбенти здатні поглинати та зв'язувати радіонукліди, деякі пестициди, важкі метали та інші хімічні сполуки.

Глауконіт (від грец. glaukos — блакитнуватозелений), мінерал, водяний алюмосилікат заліза, що відноситься до групи гідрослюд підкласу шаруватих силікатів $K_{<1>}(Fe^{3+}, Fe^{2+}, Al, Mg)_{2-3}[Si_3(Si, Al)O_{10}][OH]_{2-n}H_2O$ [8] / $(K, Na, Ca)(Fe^{3+}, Mg, Fe^{2+}, Al)_2(Al, Si)Si_3O_{10}(OH)_2 \cdot H_2O$ [9]. Мінерал характеризується непостійним і складним хімічним складом. Найголовнішими складовими частинами глауконіту є кремнезем (49–56 %), гідроксид і оксид заліза (до 21 %), оксид алюмінію (до 18 %), оксид калію (до 10 %), оксид магнію (до 7 %) і вода (до 13 %). Зелени землісті агрегати. Твердість 2–3; щільність 2,2–2,9 г/см³. Широко розповсюджений в осадових породах. Застосовується для зменшення твердості води, як добриво, меліорант ґрунтів, комплексний сорбент. Глауконіт має значну здатність до поглинання і катіонного обміну. Найбільше значення мають глауконітові піски, які складають основну масу осадових горизонтів Поділля, При-

дністров'я, в долинах рік Смотрич, Званчик, Ушиці [9].

Цеоліт. Термін цеоліт включає цілу родину мінералів — водомістких алюмосилікатів з катіонами калію, натрію, кальцію і магнію. Структурна формула цеоліту: $Mm/n [(Al)_x(Si)_y] \cdot z_2Ox + y$ — сума тетраедрів в елементарному осередку, m — число катіонів M , n — валентність катіона. Цеоліт — «пористий кристал» із твердим каркасом. Характерно, що параметри цього каркаса мало змінюються при дегідратації в результаті нагрівання до досить високої температури. Катіони, що заповнюють порожнини, оточені гідратними оболонками і порівняно легко піддаються іонному обміну. Алюмосилікати, кристалічна структура яких утворена тетраедрами $[Si_4]_4$ і $[Al_4]_5$, об'єднані загальними вершинами в тривимірний каркас, пронизаний порожнинами і каналами. В останніх знаходяться молекули води і катіони металів (I та II груп періодичної системи Менделєєва), а також амонію, гідронію, тетрааміламонію та інші введені катіонним обміном полівалентні іони. Потужні родовища цеолітів розташовані в Закарпатській області — Сокирницьке родовище (Україна), в околицях Дименгувки (Польща), у місцевості Нижній Грабовець (Словаччина) [10].

Трепел (нім. Tüpel, від назви міста Tripoli — Тріполі в Північній Африці), тонкопориста осадова гірська порода, пухка чи слабкоцементована, дуже легка. По фізико-хімічним властивостям трепел аналогічний діатоміту, але майже позбавлений органічних залишків. Складений

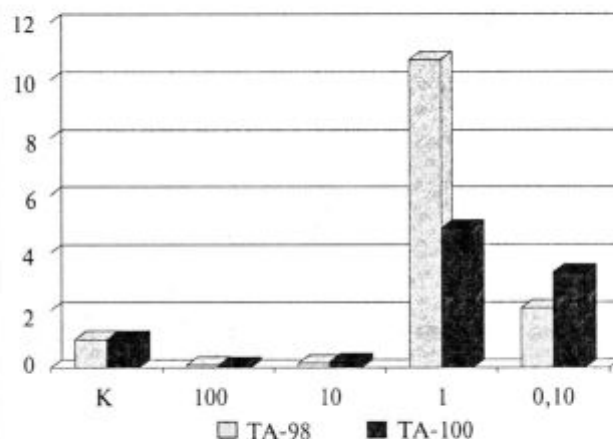


Рис. 1. Мутагенна активність рідких відходів виробництва мономера ФС-14 у тесті Еймса: по вертикалі — кратність перевищення кількості колоній ревертантів відносно контролю; по горизонталі — концентрація зразка, %

переважно дрібними сферичними опаловими, іноді халендоновими тільцями (глобулами) розміром 0,01—0,02 мм. Зазвичай в невеликій кількості містить глинисту речовину, зерна глауконіту, кварцу, польових шпатів [8].

Активоване вугілля одержують з викопних чи деревних вугінь видаленням смолистих речовин і створенням розгалуженої мережі пор. Має високорозвинену поверхню, завдяки якій може поглинати (адсорбувати) багато речовин. Активоване вугілля застосовують у протигазовій техніці як адсорбент і носій каталітичних та хемосорбційноактивних добавок; у промисловості — для вловлювання органічних розчинників, для видалення з водних розчинів органічних

Таблиця 1

Мутагенна активність рідких відходів виробництва мономера ФС-141 у тесті Еймса

Зразок	Тест-штами	Розведення	Число колоній his-ревертантів			\bar{X}	X_d/X_k	Мутагенність, бали
			1	2	3			
Відходи виробництва ФС-141	ТА 98	1	3	10	5	6,0	0,10	0
		0,1	12	3	4	6,3	0,16	0
		0,01	365	389	310	354,7	10,70	2
		0,001	92	59	90	83,6	2,08	1
Контроль, H ₂ O			38	29	34	33		
Відходи виробництва ФС-141	ТА 100	1	9	7	2	6,0	0,08	0
		0,1	18	11	13	14,0	0,22	0
		0,01	412	292	200	301,3	4,85	1
		0,001	98	312	204	204,6	3,33	1
Контроль, H ₂ O			76	41	68	68		

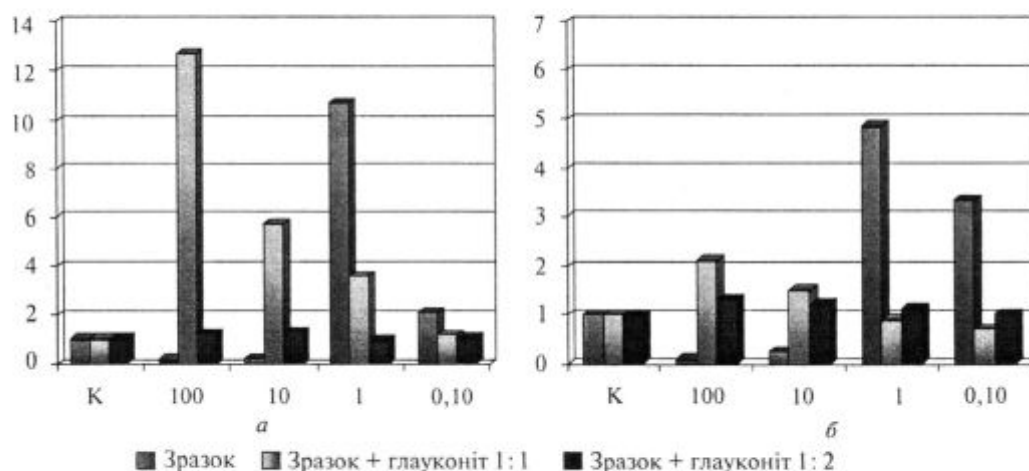


Рис. 2. Кратність перевищення кількості колоній ревертантів у тесті Еймса до і після використання глауконіту на штаммах TA 98 (а) і TA 100 (б): по горизонталі — концентрація зразка, %; по вертикалі — кратність перевищення кількості колоній ревертантів відносно контролю

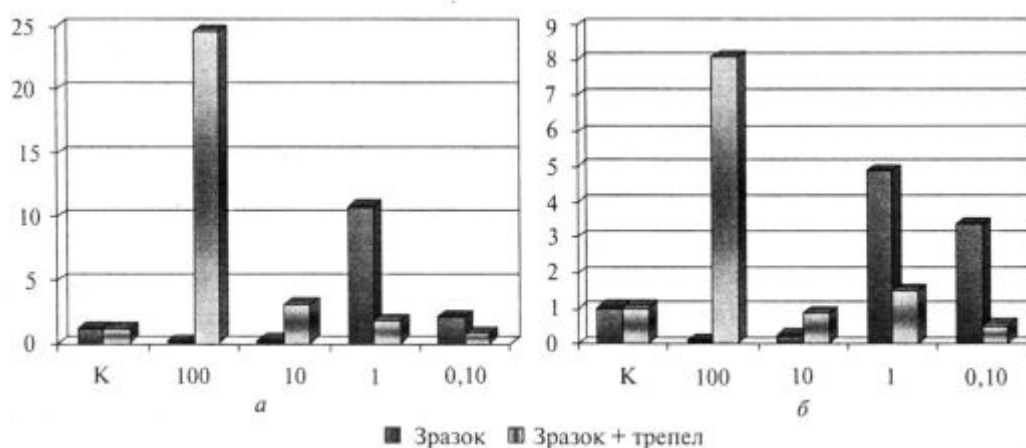


Рис. 3. Кратність перевищення кількості колоній ревертантів у тесті Еймса до і після використання трепелу на штаммах TA 98 (а) і TA 100 (б): по горизонталі — концентрація зразка, %; по вертикалі — кратність перевищення кількості колоній ревертантів відносно контролю

домішок; у високовакуумній техніці — для створення сорбційних насосів; у медицині — для поглинання шкідливих речовин із шлунково-кишкового тракту, зокрема при диспепсії, отруєннях алкалоїдами та солями важких металів, харчових отруєннях [8].

До синтетичних сорбентів відносять *іонообмінні смоли* — високомолекулярні (полімерні) органічні іоніти. За структурною ознакою розрізняють дрібнопористі, чи желеподібні, та макропористі. Серед промислових іонообмінних смол широке поширення отримали смоли на основі сополімерів стиролу та дивінілбензолу. У їх складі сильноокислотні катіоніти, сильно- і слаболужні

аніоніти. Основною сировиною для промислового синтезу слабокислотних катіонообмінних смол служать акрилова та метакрилова кислоти та їх етери. У великих кількостях виробляються іонообмінні смоли також на основі фенолоальдегідних полімерів та ін. [8]. Спрямований синтез іонообмінних смол дозволяє створювати матеріали із заданими технічними характеристиками.

Метою нашої роботи було виявлення мутагенних ефектів рідких фторорганічних відходів виробництва мономера ФС-141, які зосереджені на території Львівщини; вивчення можливості зняття або зменшення мутагенних фонів за допомогою природних сорбентів, таких як глау-

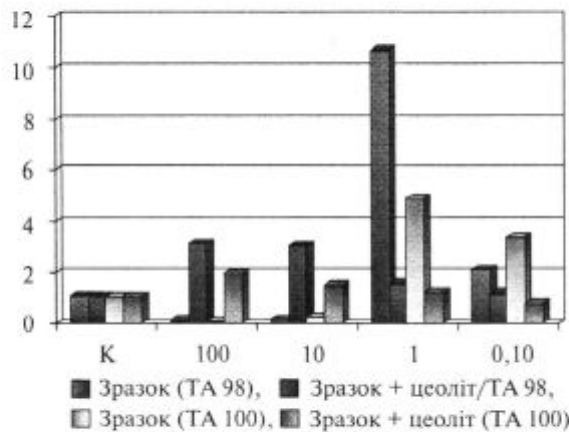


Рис. 4. Кратність перевищення кількості колоній ревертантів у тесті Еймса до і після використання цеоліту на штаммах TA 98 і TA 100: по горизонталі — концентрація зразка, %; по вертикалі — кратність перевищення кількості колоній ревертантів відносно контролю

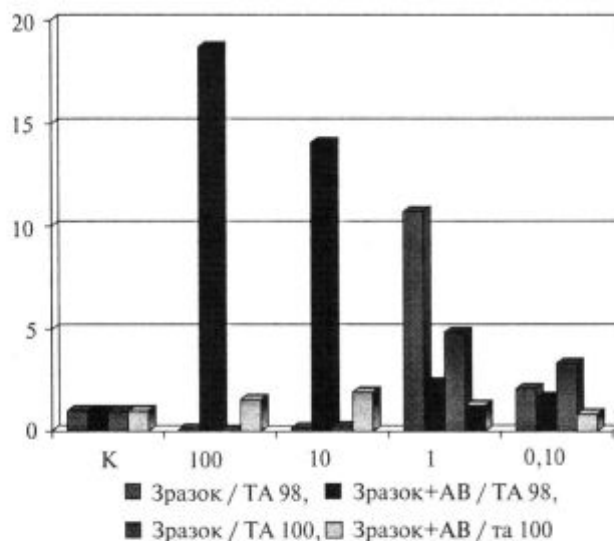


Рис. 5. Кратність перевищення кількості колоній ревертантів у тесті Еймса до і після використання активованого вугілля на штаммах TA 98 і TA 100: по горизонталі — концентрація зразка, %; по вертикалі — кратність перевищення кількості колоній ревертантів відносно контролю

коніт, трепел, цеоліт, активоване вугілля, та синтетичного сорбенту іонообмінної смоли КУ-2-8.

Матеріал і методи. Матеріалом служили зразки рідких фторорганічних відходів виробництва мономера ФС-141 ($C_7F_{14}O_4S$), який використовується як один з вихідних продуктів виробництва іонообмінних мембран для процесів отримання хлору та каустичної соди електролізом хлористого Na. Синтез мономера здійснювався

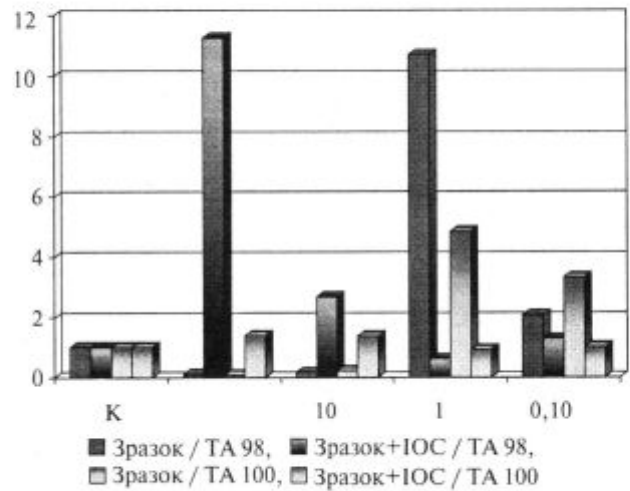


Рис. 6. Кратність перевищення кількості колоній ревертантів у тесті Еймса до і після використання іонообмінної смоли КУ2-8 на штаммах TA 98 і TA 100: по горизонталі — концентрація зразка, %; по вертикалі — кратність перевищення кількості колоній ревертантів відносно контролю

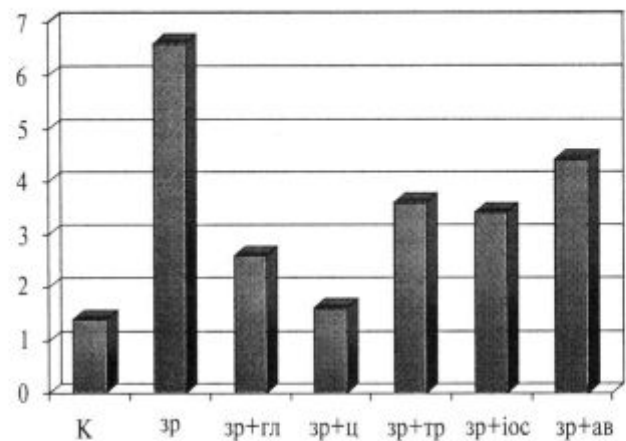


Рис. 7. Рівень хромосомних аберацій у меристемних клітинах корінців *Allium cepa* (по вертикалі), індукованих рідкими відходами виробництва мономера ФС-141 без та при експозиції з сорбентами

за рахунок термічної взаємодії продукту ФС-161 (4,7-трифторметил-3,6-диоксо-8-оксоперфтороктансульфонілфториду-1) з безводним вуглекислим натрієм. Виробництво мономера ФС-141 припинено у 1991 р. Кількість рідких фторорганічних відходів складає 2,1 т, що є критичним для підприємства. До їх складу входять фторорганічні сполуки (мономер ФС-161($C_8F_{16}O_5S$) — 80 % та діглім ($C_6H_{14}O_3$) — 20 % (диметилловий ефір етиленгліколю). Рідкі відходи зберігаються в складському приміщенні в металічних ємностях. Відходи відносяться до III класу небезпечності.

Результати обліку хромосомних аберацій, індукованих зразками відходів виробництва мономера ФС-141 з використанням та без використання сорбентів

Зразок	Всього ана-телофаз	Кількість ана-телофаз з перебудовами							t	P
		абсолютна кількість	—	==	I	II	інші	M ± m		
Контроль	634	7	1	1	1	4	—	1,4 ± 0,68		
Зразок 1 : 10	627	33	3	4	7	9	10	6,6 ± 1,3	3,43	0,01
Зразок + глауконіт	526	13	1	1	3	5	3	2,6 ± 0,7	1,18	0,13
Зразок + цеоліт	594	8	1	0	2	3	2	1,6 ± 0,5	0,23	0,41
Зразок + трепел	617	16	2	1	4	5	6	3,6 ± 0,9	1,91	0,04
Зразок + ІОС	620	17	1	2	3	6	5	3,4 ± 0,9	1,74	0,06
Зразок + АВ	621	22	3	1	4	5	9	4,4 ± 1,3	2,01	0,04

Суміш рідких фторорганічних відходів виробництва мономера ФС-141 в кількості 2,1 т могла б бути вивезена на полігон для поховання рідких відходів. Однак під впливом опадів (дощів) можливе забруднення підземних водоносних шарів фтором, а при наявності у колодязній воді солей важких металів можливе повторення ефекту потенціювання (підсилення) токсичної дії фтору і появи ендемічного флюорозу.

Для первинного висновку про генотоксичність використовували тест Еймса [11, 12] на двох штаммах *Salmonella typhimurium* TA 98 (his D3052, rfa, Divg B, +R), який реєструє генні мутації типу зсуву рамки зчитування, і TA 100 (his G46, rfa, Divg B, +R), який реєструє генні мутації типу заміни пар основ. Контролем служила дистильована вода. Мутагенність оцінювали по кратності перевищення кількості колоній ревертантів відносно контролю.

Метод обліку хромосомних порушень вивчали в ана-телофазному тесті на *Allium cepa*. Суть методу полягає у виявленні хромосомних аберацій, котрі виникають у меристемних клітинах корінців *Allium cepa* при пророщуванні їх на досліджуваних субстратах. Для фіксації використовували фіксатор Кларка. Фарбування проводили ацетокарміном. При перевірці достовірності використовували коефіцієнт Ст'юдента.

Проведено дослідження по виявленню мутагенної активності рідких відходів виробництва мономера ФС-141 при нативній концентрації та при розведенні у 10, 100 та 1000 разів на штаммах TA 98, TA 100 *S. typhimurium*. Виявлено, що рідкі відходи виробництва мономера ФС-141 во-

лодіють мутагенною активністю. При розведенні вихідного зразка у 100 та 1000 разів на штамі TA 98 зафіксована мутагенність: кількість колоній ревертантів на дослідних чашках в порівнянні з контролем при розведенні у 100 разів перевищувала більше ніж у 10 разів, що оцінюється двома балами мутагенності, і при розведенні у 1000 разів приблизно у два рази, що оцінюється одним балом мутагенності. На штамі TA 100 зафіксовано мутагенність також при розведенні у 100 та 1000 разів, яка відповідно до загальноприйнятої шкали оцінюється одним балом (табл. 1).

При 100%-ній концентрації зразка, а також при розведенні його у 10 разів спостерігався цитотоксичний ефект (рис. 1). Для вивчення можливості зняття або зменшення мутагенних фонів застосовували природні сорбенти (глауконіт в об'ємному співвідношенні 1:1 та 1:2), сорбційні властивості яких визначаються пористою структурою поверхні часточок, здатністю обмінювати одновалентні катіони Na⁺ і K⁺ на двовалентні Ca²⁺ і Mg²⁺. На штамі TA 98 *S. typhimurium* (рис. 2, а) при добовій експозиції глауконітом у співвідношенні 1:1 зафіксований мутагенний ефект при нативній концентрації та при розведенні у 10 разів. При розведенні у 100 разів знижено мутагенну активність з двох балів до одного, а при розведенні у 1000 разів мутагенні ефекти зразків знімалися повністю. Оскільки мутагенність знімалась не всюди, було збільшено обсяг сорбенту. У об'ємному співвідношенні 1:2 спостерігалось повне зняття мутагенної активності при нативній концентрації та розведеннях у 10, 100 та 1000 разів. Рівень колоній ревертантів не перевищував контрольних показників. Як

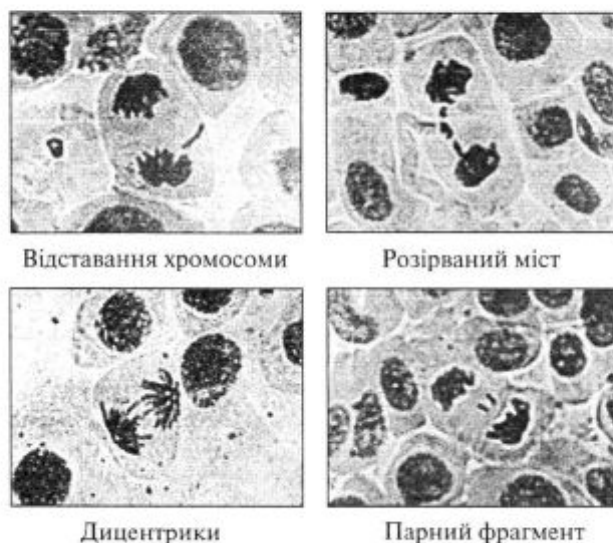


Рис. 8. Хромосомні аберації, що виявлені при аналізі меристемних клітин корінців *Allium cepa*, пророщених на зразках відходів виробництва мономера ФС-141

видно з рис. 2, б, на штамі ТА 100 спостерігалася зміна мутагенної активності рідких відходів виробництва мономера ФС-141 після добової експозиції глауконітом. У об'ємних співвідношеннях 1:1 та 1:2 глауконіт повністю знімав мутагенну активність.

Після добової експозиції трепелом 1:1 на штамі ТА 98 мутагенний ефект знімався лише при розведенні у 100 та 1000 разів. При вищих концентраціях мутагенний ефект знижувався, проте остаточного зняття мутагенності не вдалося досягнути. На штамі ТА 100 генотоксичний ефект знімався при всіх розведеннях досліджуваного зразка. При нативній концентрації мутагенність

знижувалась, проте повністю зняти її за допомогою трепелу не вдалося (рис. 3, а, б).

При добовій експозиції зразків відходів виробництва мономера ФС-141 з цеолітом у об'ємному співвідношенні 1:1 на штамі ТА 98 спостерігалась мутагенна активність. На штамі ТА 100 мутагенної активності після взаємодії з цеолітом не було виявлено (рис. 4).

При дослідженні здатності знімати або зменшувати мутагенну активність за допомогою активованого вугілля у об'ємному співвідношенні 1:1 виявлено: мутагенна активність знімалась при розведенні зразка в 1000 разів на штамі ТА 98 та при всіх концентраціях на штамі ТА 100 (рис. 5). Також нами був використаний синтетичний сорбент КУ2-8, що відноситься до іонообмінних смол, а саме катіонітів. Генотоксичність за допомогою сорбенту була знята при всіх розведеннях на штамі ТА 100 та при розведеннях у 100 та 1000 разів на штамі ТА 98. При нативній концентрації та розведенні у 10 разів знімалася цитотоксичність, проте фіксувалася мутагенна активність середнього та слабого рівня відповідно (рис. 6).

Здатність зразків рідких відходів виробництва мономера ФС-141 індукувати хромосомні аберації вивчали в ана-телофазному тесті на *Allium cepa*. Виявлено індукцію хромосомних аберацій (табл. 2). Серед ана-телофаз, які спостерігалися на тиснених препаратах, були парні фрагменти, які є результатом делецій, та мости — результат транслокацій (рис. 7). Частіше зустрічалися одинарні та подвійні мости. Після добової експозиції сорбентами рівень хромосомних аберацій знижувався, а при використанні цеоліту повністю знімався (рис. 8).

Таблиця 3

Результати обрахунку мітотичного індексу меристемних корінців *Allium cepa*, пророщених на зразках відходів виробництва мономера ФС-141 з використанням та без використання сорбентів

Зразок	Всього клітин	Клітини в процесі мітотичного поділу					МІ, %
		Всього	Профаза	Метафаза	Анафаза	Телофаза	
Контроль, Н ₂ О	3077	2373	2190	98	60	25	771,2
Зразок 1 : 10	3122	1046	950	49	24	23	335,2
Зразок + глауконіт	3437	2598	2493	57	21	27	755,3
Зразок + трепел	3196	2440	2338	58	20	24	763,1
Зразок + цеоліт	2815	1830	1669	82	46	49	650,1
Зразок + АВ	3036	2178	1922	48	23	25	717,6
Зразок + ІОС	3065	2154	2068	40	21	25	702,4

Паралельно проводили облік мітотичної активності в меристемних клітинах корінців *Allium cepa* (табл. 3). При пророщуванні насінин на дослідних зразках мітотичний індекс зменшувався, що свідчить про інгібуючу дію. При використанні різних сорбентів мітотичний рівень знаходився на рівні контрольних показників (771,2 ‰).

Таким чином, при вивченні сумарної мутагенної активності рідких відходів виробництва мономера ФС-141 у тесті Еймса виявлено індукцію генних мутацій на *Salmonella typhimurium*. При розведенні зразків у 10 разів отримано мутагенну активність у ана-телофазному тесті на індукцію хромосомних аберацій у меристемних клітинах корінців *Allium cepa*. Проведено дослідження щодо доцільності використання природних сорбентів (глауконіт, трепел, цеоліт, АВ) для зняття або зменшення мутагенних фонів суміші рідких відходів виробництва мономера ФС-141. Найефективнішими виявилися цеоліти у об'ємному співвідношенні зразок : сорбент (1:1) та глауконіти у об'ємному співвідношенні зразок : сорбент (1:2).

SUMMARY. Study of total mutagenic effects of liquid fluorine-organic waste products of monomer FC-141 manufacture has been carried out. Induction of gene mutations according to the mechanism of pair base replacement and shift of reading frame and induction of chromosomal aberrations, in particular deletions and translocations, has been shown. Expediency of use of natural sorbents for mutagenicity removal from fluorine-organic waste products was investigated. Zeolites and glauconites appeared to be the most effective ones.

РЕЗЮМЕ. Проведены исследования относительно изучения суммарных мутагенных эффектов в жидких фторорганических отходах производства мономера ФС-141. Выявлена индукция генных мутаций по типу замены пар оснований и сдвига рамки считывания, а также ин-

дукция хромосомных аберацій, в частности делецій и транслокацій. Изучена целесообразность использования естественных сорбентов для снятия мутагенности фторорганических отходов. Наиболее эффективными оказались цеолиты и глаукониты.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Барыляк И.Р., Бужиевская Т.И. и др. Генетические последствия загрязнения окружающей среды. — Киев : Наук. думка, 1989. — 232 с.
2. Бочков Н.П., Чеботарев А.Н. Наследственность человека и мутагены внешней среды. — М.: Наука, 1989. — 207 с.
3. Гауптман З., Грефе Ю., Ремане Х. Органическая химия / Пер. с англ. Б.П. Терентьева. — М.: Химия, 1979. — 595 с.
4. Грехова Т.Д., Канцельсон Б.А., Русин Б.Я. Фтор и его соединения // Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов V—VIII группы. — Л.: Химия, 1989.
5. Окунев В.Н., Жиринов В.В. Биохимические механизмы действия фтора // Укр. биохим. журн. — 1985. — № 2. — С. 103—113.
6. Абилов С.К., Порошенко Г.Г. Ускоренные методы прогнозирования мутагенных и blastomonoгенных свойств химических соединений. Токсикология. — М.: ВИНТИ, 1986. — С. 27—57 (Итоги науки и техники. Т. 14).
7. Строчкова Л.С., Сороковой В.И. Влияние фтора на ферменты клетки // Усп. соврем. биологии. — 1983. — № 2 (5). — С. 221—223.
8. Большая Советская Энциклопедия. — М., 1975. — Т. 21. — С. 346—349.
9. Николаева И.В. и др. Минералогия и геохимия глауконита. — М.: Наука, 1972. — 69 с.
10. Тарасевич Ю.И. Адсорбция на глинистых минералах. — Киев : Наук. думка, 1975. — 352 с.
11. Ames B.N. A bacterial system for detecting mutagens and cancerogens // Mutagenic Effect of Environmental Contaminants. — New York : Acad. press, 1972. — P. 261—282.
12. Houk V.S. The genotoxicity of industrial wastes and effluents // Mutat. Res. — 1992. — № 227. — P. 91—138.

Надійшла 28.07.04