

ID: 2012-04-977-A-1527

Оригинальная статья

Забродина З.А., Давыдова В.А.

Оценка безопасности современных текстильных изделий

Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.

Резюме

Серьезную проблему для гигиенической оценки современных текстильных изделий представляют текстильно-вспомогательные вещества, основным компонентом которых является формальдегид. В работе представлены результаты по определению безопасности текстильных тканей и изделий с помощью биологических моделей. Установлено, что формальдегид, содержащийся в текстильных изделиях российских производителей, не оказывают дестабилизирующего действия на мембраны эритроцитов. Однако эти же концентрации являются токсичными для водных обитателей, в частности для хлореллы, с помощью которой определяют токсичность водных проб.

Ключевые слова: текстильные изделия, формальдегид, гемолиз эритроцитов, оптическая плотность, микроводоросли

Введение

Проблема обеспечения безопасности потребительских товаров является одной из важнейших задач, так как от ее решения зависит здоровье и благополучие человека. Прежде всего, это относится к таким важным для человека товарам, как текстильные изделия бытового назначения, в частности, одежда.

Особенностью современного рынка текстильных изделий является большое разнообразие ассортимента, которое достигнуто путем использования модифицированных химических волокон, применения различных фактур и новых отделок. Изменились и основные потребительские свойства материалов, многие из которых до сих пор не достаточно изучены.

Кроме того, серьезную проблему для гигиенической оценки современных текстильных изделий представляют текстильно-вспомогательные вещества, основным компонентом которых выступает формальдегид [1].

Требования к предельно допустимым нормам содержания формальдегида в текстильных изделиях являются особенно важными и принимаются во внимание при их сертификации. Как известно, формальдегид относится ко II классу опасности, обладает общетоксическим, раздражающим, аллергенным, мутагенным, канцерогенным действием, вызывает поражение центральной нервной системы, легких, печени, почек, органов зрения [2].

Особенно велика концентрация свободного формальдегида в тканях, подвергшихся дополнительным заключительным отделкам препаратами на основе предконденсатов терморезистивных смол. К таким отделкам относят придание формоустойчивости, несминаемости, малоусадочности, которые в свою очередь повышают качество готового швейного изделия и сохранение его товарного вида в процессе эксплуатации [3].

В связи с высокой токсичностью и широким применением формальдегидсодержащих текстильно-вспомогательных веществ во многих странах были приняты законодательные меры, ограничивающие содержание данного токсиканта в текстильных изделиях. В настоящее время в Европе безопасность текстильной продукции оценивается по единой системе стандартов ОЕКО-ТЕХ-100. В России санитарно-эпидемиологическая оценка текстильных материалов проводится в соответствии с требованиями СанПиНа 2.4.7/1.1.1286-03 «Гигиенические требования к одежде для детей, подростков и взрослых». Данные нормативные документы существенно различаются по методическим подходам к нормированию содержания формальдегида в текстильных изделиях.

Таким образом, учитывая все вышеизложенное, оценка безопасности тканей, обработанных формальдегидсодержащими текстильно-вспомогательными веществами, является весьма актуальной проблемой современности.

Целью нашей работы являлась оценка безопасности тканей, обработанных формальдегидсодержащими текстильно-вспомогательными веществами, с помощью биологических моделей.

Материал и методы

В качестве объектов исследования были выбраны хлопчатобумажные и льняные ткани трех российских производителей «Шуйские ситцы», «Ярцевский хлопчатобумажный комбинат» и Чебоксарский хлопчатобумажный комбинат. Все ткани бельевого назначения и составляют основную долю текстильных тканей потребительского рынка г. Саратова. Также изучались текстильные изделия для новорожденных и детей раннего возраста отечественных производителей, продающихся в магазинах и на рынках г. Саратова.

Определение количества свободного формальдегида в выбранных тканях проводилось по ГОСТу 25617-83 «Ткани и изделия льняные, полульняные, хлопчатобумажные и смешанные. Методы химических испытаний».

Результаты по содержанию формальдегида в исследуемых изделиях были представлены ранее [4]. Для данного эксперимента из установленных концентраций были выбраны те, которые определялись чаще других и те, которые оказались максимальными в выявленном концентрационном ряду. Это концентрации: 24, 27, 30, 33 и 36 мкг/г.

Оценка безопасности исследуемых текстильных изделий осуществлялась с помощью двух биологических моделей: эритроцитов крови и микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer. Так как уровень миграции формальдегида из тканей и одежды должен оцениваться по гигиеническим нормативам, установленным для веществ, поступающих в организм

перорально, то нами проводилась оценка воздействия водных растворов формальдегида с заданными концентрациями на модели живых организмов.

Источником эритроцитов служила кровь лабораторных крыс, разведенная физиологическим раствором в соотношении 1:10 в момент отбора из подязычной вены. Суспензию центрифугировали в течение 10 мин при 4000 об/мин, осадок отмывали физиологическим раствором 3 раза в тех же условиях. Эритроциты ресуспендировали в физиологическом растворе, создавая оптическую плотность $D_{670} = 0,8 - 1,2$. В каждой индивидуальной серии опытов использовали кровь одного и того же животного.

Для изучения влияния определенных концентраций формальдегида на эритроциты был выбран метод определения их гемолитической устойчивости по отношению к токсиканту [5]. Для этого приготовленную суспензию клеток в физиологическом растворе инкубировали с токсикантом в концентрациях 24, 27, 30, 33 и 36 мкг/мл при температуре +20 °C в течение 10 мин. Медленный гемолиз индуцировали путем добавления в пробы раствора додецилсульфата натрия (ДСН) до концентрации 40 мкмоль/л. Кинетику гемолиза регистрировали в течение 120 мин (с момента введения гемолитика, через каждые 30 мин) на спектрофлуориметре «Флюорат-02-Панорама» при длине волны 670 нм, в кювете с оптическим слоем 1 см. Контролем являлась суспензия клеток, выдержанных в тех же условиях без формальдегида. Определяли относительный процент гемолиза и относительную скорость гемолиза.

Для определения влияния исследуемых концентраций формальдегида на микроводоросли *Chlorella vulgaris* использовался метод оценки прироста биомассы с помощью измерения оптической плотности тест-культуры водоросли, выращенной на среде с формальдегидом и без него [6].

Перед измерением культура водоросли *Chlorella vulgaris*, выращенная на 50% среде Тамия в культиваторе KB - 05, профильтровывалась через 4 слоя марли и разбавлялась до оптической плотности $0,125 \pm 0,005$ свежей 50 % средой Тамия. Ростовые характеристики культуры водоросли хлорелла определялись в многокюветном культиваторе KBM – 5.

Измерение оптической плотности культуры тест-объекта проводилось через 22 часа культивирования с помощью фотоэлектроколориметра КФК-3 в кювете толщиной 1 см, при длине волны 670 нм. Эксперимент считается успешным, если величины оптической плотности в контрольных флаконах не ниже 0,120. Для каждой концентрации формальдегида рассчитывалось относительное изменение величины оптической плотности по сравнению с контролем.

Результаты

Как было сказано выше, для оценки воздействия выявленных концентраций формальдегида на эритроциты, был выбран метод определения гемолитической устойчивости. В ходе эксперимента были получены данные, позволяющие построить кинетические кривые гемолиза, и рассчитать относительное значение скорости и процент гемолиза. Результаты представлена на рисунках 1, 2 и в таблице 1.

Таблица 1. Относительный процент гемолиза эритроцитов в присутствии исследуемых концентраций формальдегида

| Концентрация формальдегида, мкг/мл | Относительный процент гемолиза |
|------------------------------------|--------------------------------|
| контроль | $1 \pm 0,1$ |
| 24 | $0,92 \pm 0,2$ |
| 27 | $0,96 \pm 0,1$ |
| 30 | $0,99 \pm 0,2$ |
| 33 | $0,91 \pm 0,1$ |
| 36 | $0,76 \pm 0,1$ |

На следующем этапе работы определялась токсичность выявленных концентраций формальдегида (24, 27, 30, 33 и 36 мкг/мл) с помощью микроводорослей *Chlorella vulgaris*, по измерению прироста биомассы тест-культуры в зависимости от среды выращивания. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2. Изменение оптической плотности суспензии клеток *Chlorella vulgaris* в зависимости от концентрации формальдегида

| Исследуемые концентрации формальдегида, мкг/мл | Оптическая плотность | Относительное изменение оптической плотности, % |
|--|----------------------|---|
| контроль | $0,84 \pm 0,03$ | 0 |
| 24 | $1,13 \pm 0,01$ | 34 |
| 27 | $1,11 \pm 0,01$ | 32 |
| 30 | $1,15 \pm 0,02$ | 36 |
| 33 | $1,16 \pm 0,03$ | 38 |
| 36 | $1,22 \pm 0,04$ | 45 |

Обсуждение

Для оценки безопасности текстильных изделий особый интерес представляет изучение влияния выявленных концентраций формальдегида на живые организмы. Как правило, основными мишенями действия физиологически активных веществ и токсикантов являются клеточные мембраны. Биологические мембраны имеют универсальное значение в функционировании клеток различного типа благодаря наличию в них белков-рецепторов, способности регулировать энергетические процессы в клетке, а также организовывать водное пространство внутри и снаружи клетки [7].

Поскольку природные мембраны – очень сложные системы, исследование их характеристик проводят с помощью экспериментальных моделей, которыми, в частности, являются эритроциты [7]. Эритроциты имеют характерную и типичную для всех эукариотических клеток мембрану. Простота клеточной организации и возможность получения эритроцитов в необходимых количествах делают их привлекательными экспериментальными моделями для изучения воздействия различных факторов на мембраны. Кроме того, существует достаточно много методов оценки структурно-функционального состояния их клеточной мембраны. Одним из таких методов является метод определения гемолитической устойчивости эритроцитов.

Гемолиз – процесс разрушения клеточных мембран эритроцитов. Он происходит в результате воздействия на клетки химических веществ. Устойчивость эритроцитов к гемолитическому воздействию определяется многими факторами, в том числе возрастом клеток и состоянием их клеточной мембраны [8].

Различные виды гемолиза эритроцитов используют для моделирования гемолитического действия биологических агентов (токсинов, бактерий, вирусов), а также для оценки состояния мембран [5,8].

Для наших исследований наибольший интерес представляет гемолиз эритроцитов детергентами, особенно ДСН. В его основе лежит процесс образования пор в мембране, в результате чего происходит коллоидно-осмотический лизис клетки [5]. Подобный процесс имеет место под действием гемолитиков биологического происхождения. Показано, что низкие концентрации ДСН вызывают медленный (десять минут) полный гемолиз эритроцитов, повышенные (однако домицеллярные) концентрации – быстрый гемолиз, при котором в зависимости от концентрации гемолитика может быстро лизироваться различная часть клеток (от 0 до 100%) [5]. Установлено, что скорости быстрого и медленного гемолиза ДСН обусловлены размером образующихся под действием детергента пор. При медленном гемолизе их диаметр составляет порядка 40 Å, при быстром – поры имеют большие размеры, достаточные для выхода молекул гемоглобина [5].

Кроме гемолиза ДСН вызывает образование бесспектринных везикул. Везикуляция эритроцитов обусловлена включением детергента в мембрану, она защищает клетки от гипотонического лизиса. Степень везикуляции зависит от содержания ДСН, достигая насыщения при концентрации детергента 60 мкмоль/л. Показано, что везикуляция оказывает различное влияние на скорости быстрого и медленного гемолиза эритроцитов ДСН [5]. Везикуляция происходит значительно быстрее, чем медленный гемолиз и защищает эритроциты от этого процесса, т.е. соединения, уменьшающие степень везикуляции эритроцитов, ускоряют их гемолиз. В условиях быстрого гемолиза конкурирующий процесс везикуляции делает его чувствительным к любому воздействию, в том числе веществ в низких концентрациях [5].

Таким образом, гемолиз эритроцитов детергентом ДСН может быть выбран для исследования воздействий химической и физической природы на клеточные мембраны.

Для того чтобы определить уровень воздействия выявленных концентраций формальдегида на клеточные мембраны нами оценивалась гемолитическая устойчивость эритроцитов в отношении детергента ДСН в присутствии данных концентраций токсиканта. Контролем являлись эритроциты, проинкубированные в среде без формальдегида.

Как видно из графиков рисунка 1, данные концентрации формальдегида не оказывают существенного воздействия на гемолитическую устойчивость эритроцитов. Исключением является концентрация 36 мкг/мл, при которой отмечается небольшое увеличение оптической плотности эритроцитов через 1 час от начала эксперимента.

Отметим, что под влиянием данных концентраций формальдегида изменение гемолитической устойчивости во времени происходит синхронно.

Далее с помощью полученных результатов рассчитывались относительное значение скорости и процент гемолиза эритроцитов.

Как видно из рисунка 2 и таблицы 1, исследуемые концентрации формальдегида не оказывают влияния на гемолиз эритроцитов, за исключением концентрации 36 мкг/мл, которая замедляет гемолиз, что проявляется в виде меньшего процента и скорости гемолиза относительно контроля.

Как было описано выше, ДСН кроме гемолиза может еще вызывать образование везикул. Везикуляция происходит значительно быстрее, чем медленный гемолиз и защищает эритроциты от этого процесса. Следовательно, формальдегид в концентрации 36 мкг/мл увеличивает степень везикуляции эритроцитов, что защищает клетки от гипотонического лизиса.

Далее определялась токсичность выявленных концентраций формальдегида для растительных организмов, в частности, для тест-культуры зеленой протококковой водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris*). Хлорелла легко культивируется в лабораторных условиях. В силу своих физиологических особенностей эта водоросль устойчива к микробному загрязнению и чувствительна к действию различных токсикантов. Кроме того, хлорелла характеризуется устойчивостью морфологических признаков, что облегчает учет дегенерированных форм, возникающих под влиянием токсикантов [9].

Поскольку хлорелла относительно быстро реагирует на изменение условий окружающей среды, ее часто используют как тест-объект для определения уровня воздействия химических веществ на живые организмы.

О степени влияния токсиканта с помощью данного метода можно судить по изменению оптической плотности тест-культуры водоросли за 22 часа от начала биотестирования. Измерение оптической плотности суспензии водоросли позволяет оперативно контролировать изменение численности клеток в контрольном и опытных вариантах эксперимента. Критерием токсичности воды является снижение на 20% (подавление роста) или увеличение на 30% (стимуляция роста)

величины оптической плотности культуры водоросли, выращиваемой в течении 22 часов на тестируемой воде по сравнению с ее ростом на контрольной среде, приготовленной на дистиллированной воде. Данный эксперимент позволяет судить о влиянии токсиканта на водоросли только при условии, что величины оптической плотности в контрольных образцах будут не ниже 0,120 [6].

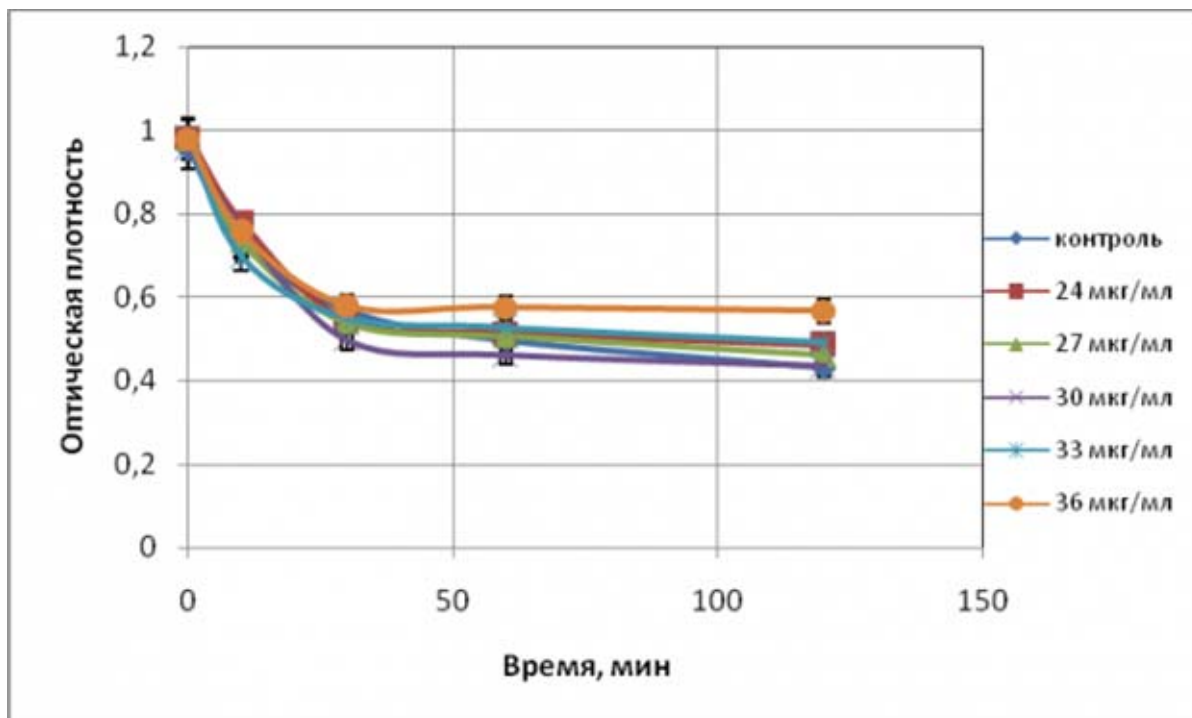


Рис. 1. Кривые гемолиза эритроцитов детергентом додецилсульфатом натрия в присутствии формальдегида в различных концентрациях, мкг/мл (контроль - эритроциты без формальдегида)

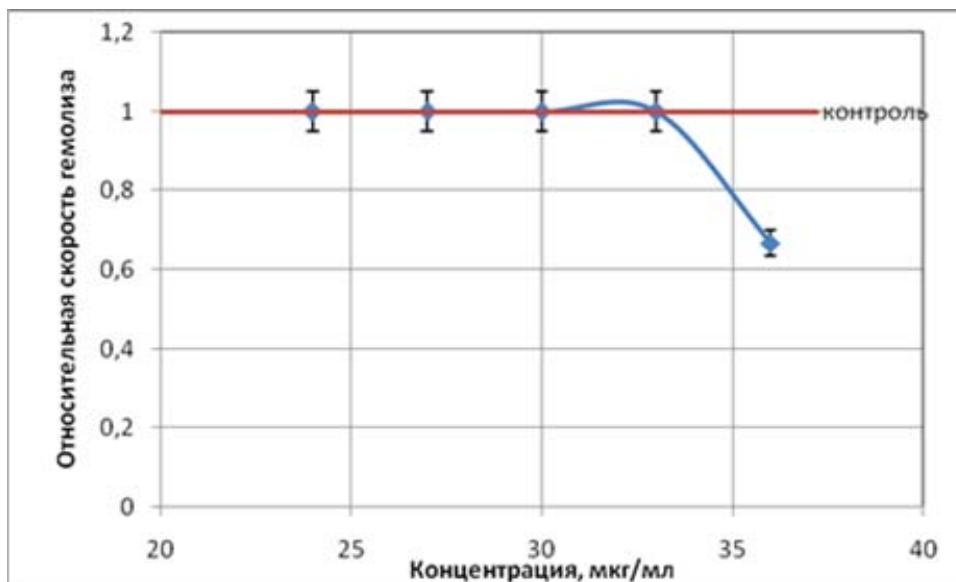


Рис. 2. Зависимость относительной скорости гемолиза эритроцитов додецилсульфатом натрия (40 мкмоль/л) от концентрации формальдегида (контроль – эритроциты без формальдегида)

Анализ полученных результатов показал, что все исследуемые концентрации являются токсичными по отношению к водоросли *Chlorella vulgaris*. Данные концентрации формальдегида оказывают стимулирующее воздействие на ростовые процессы водоросли. Наибольший эффект проявляет концентрация формальдегида 36 мкг/мл. В проведенных экспериментах оптическая плотность водорослей, выращенных в среде с исследуемыми концентрациями формальдегида, оказалась более чем на 30% выше контрольного значения. Согласно используемой методике [6], повышение средней

величины оптической плотности водорослей по сравнению с контролем на 30% и более свидетельствует о токсичности пробы воды.

Кроме того, все исследуемые концентрации формальдегида в несколько сотен раз превышают ПДК формальдегида для рыбохозяйственных водоемов (0,25 мг/л) и ПДК формальдегида в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования (0,05 мг/л). Соответственно, эти концентрации являются токсичными для водных организмов, могут накапливаться в их телах и по пищевым цепочкам передаваться от одного трофического уровня к другому.

Заключение

Проведенные исследования показали, что формальдегид, содержащийся в текстильных изделиях, является безопасным для животного организма. Выявленные концентрации данного токсиканта не оказывают дестабилизирующего действия на мембраны эритроцитов крови крыс. Однако эти же концентрации являются токсичными по отношению к растительному водному организму - водоросли *Chlorella vulgaris*.

Литература

1. Гигиеническая оценка детской одежды, изготовленной с применением текстильно-вспомогательных веществ нового поколения/ Л. М. Текшева [и др.]// Гигиена и Санитария. - 2009. - №2. - С. 77-79.
2. Огородников, С.К. Формальдегид/ С. К. Огородников – Л.: Химия, 1984. – 280 с.
3. Ольшанская, О.М. Органические вещества в льне и льняной продукции/ О.М. Ольшанская, В. А. Грищенко, А.В. Артемов// Экология и промышленность России. – 2002. - №5 - С. 35 - 38.
4. Михеева, Ю.А. Фотометрическое определение формальдегида в материалах бытового назначения/ Ю.А. Михеева, З.А. Забродина// Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2011. – Т.1, вып.1. – С.34 – 38.
5. Черницкий, Е. А. Гемолиз эритроцитов детергентами/ Е. А. Черницкий, О. А. Сенькович// Биологические мембраны. – 1997. – Т. 14, № 4. – С. 385–393.
6. Методика определения токсичности проб поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек из почвы, осадков сточных вод и отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris Beijer*) ПНД Ф 14.1:2:3:4.10-04 16.1:2:3:3.7-04. – М., 2004 г. – 26 с.
7. Геннис, Р. Биомембраны. Молекулярная структура и функции/ Р. Геннис – М.: Мир, 1997. – 622 с.
8. Балакирева, С.Ю. Исследование некоторых биофизических свойств клеточной поверхности/ С. Ю. Балакирева - Саратов: Изд-во СГУ, 1985. – 156 с.
9. Маторин, Д.Н. Биологический контроль окружающей среды. Биоиндикация и биотестирование/ Д. Н Маторин. - М.: Изд-во Академия, 2007. - С. 243 – 246.