

ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БИОСОРБЕНТА НЕФТИ С ЦЕЛЬЮ СЕРТИФИКАЦИИ

**В.А. Терехова, И.Б. Арчегова, Ф.М. Хабибуллина,
В.Г. Пугачев, Г.М. Тулянкин**

**МГУ им. М.В. Ломоносова,
Центр по проблемам окружающей среды "Экотерра", Москва
Институт биологии Коми НЦ РАН, г. Сыктывкар,
ГНЦ ВБ "Вектор", г. Новосибирск,
Центр экологических инициатив "Пресс-Торф", г. Киров**

Для борьбы с загрязнением природных сред нефтью и нефтепродуктами предложено немало физических, физико-химических и биологических способов. В настоящее время достаточно популярными являются способы, основанные на применении сорбентов нефти разного рода. При этом широко рекламируются как сорбенты, получаемые в результате химического синтеза, так и сорбенты, изготовленные на основе природных материалов [1]. К эффективным сорбентам нефти и нефтесодержащих отходов относится торфяной органоминеральный сорбент "Сорбонафт" (ТУ 0392-001-55763877-2003), разработанный и выпускаемый ЗАО "Маркетинг-бюро" и ЗАО "Центр экологических инициатив "Пресс-Торф" (г. Киров). Получаемый в результате термической обработки торфа сорбент представляет собой гидрофобный порошок, обладающий большой сорбционной емкостью и рекомендованный к использованию для очистки водной поверхности и агрегации нефтепродуктов (рис. 1) [1]. Для ликвидации небольших локальных нефтяных разливов можно использовать индивидуальное снаряжение (рис. 2, а), а для распы-

ления сорбента на больших территориях — бункеры и специальные устройства (рис. 2, б и в).

В ходе реализации проекта Международного научно-технического центра (МНТЦ) № 2216 "Разработка технологии микробиологической утилизации органоминерального нефтяного сорбента" было предложено использовать ассоциации микроорганизмов, способствующих деградации нефти. Микробные ассоциации выбирались специалистами Института биологии Коми НЦ РАН (ИБ РАН) (г. Сыктывкар) и ГНЦ ВБ "Вектор" (г. Новосибирск) из культур бактерий, дрожжевых и мицелиальных форм микроскопических грибов, выделенных из природных сред и объектов. Было подобрано пять вариантов ассоциаций микроорганизмов (нефтеокисляющие ассоциации микроорганизмов защищены патентом), которые при иммобилизации в гидрофобный сорбент способствуют деградации адсорбированных на нем нефтепродуктов [1]. Следует отметить, что одноклеточные и мицелиальные формы в неодинаковой степени влияют на гидрофобность биосорбента, распыленного на водной поверхности. Культуры мицелиальных грибов, смачивающиеся в меньшей сте-

пени, обеспечивают продолжительную плавучесть препарата. Тогда как сорбент с одноклеточными микроорганизмами (дрожжами и бактериями) со временем оседает на дно нефтезагрязненных водоемов. Однако благодаря тому, что после сорбции нефти с поверхности на водном "зеркале" даже сильно загрязненных нефтью водоемов и болот образуются своеобразные "окна" в придонном слое создаются аэробные условия и нефтеокисляющая работа микроорганизмов не прекращается (рис. 3).

Экспериментальные испытания биосорбента и способов его применения проводились в северных нефтедобывающих регионах России. В настоящее время решаются вопросы, связанные с сертификацией сорбента.

В условиях, когда нормативно-правовая база в сфере экологического нормирования вредных воздействий и контроля качества окружающей среды слабо разработана, проблема сертификации препаратов, предлагаемых в природоохранных целях, оказывается довольно сложной и во многом дискуссионной. В общем виде эти отношения регулируются Федеральным законом "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения" и За-

коном "Об охране окружающей среды". Таким образом, условия сертификации сорбентов нефти и способов их применения должны быть регламентированы с учетом требований этих двух Законов.

Авторам представляется чрезвычайно важным, чтобы формирующаяся в России система экологического контроля и нормирования не замыкалась на антропоцентристском принципе ("здоровье человека превыше всего"), а основывалась на более широкой общебиологической (биотической) концепции оценки качества среды [2].

Развитие природоохранного законодательства предполагает региональный подход в легитимности нормативных документов. В Ст. 21, 22 и 27 Федерального закона "Об охране окружающей среды" указывается, что при разработке нормативов качества окружающей среды, допустимого воздействия и допустимой антропогенной нагрузки на окружающую среду должны "учитываться природные особенности конкретных территорий и(или) акваторий, назначение природных объектов...".

Очевидно, что на огромных сибирских или северных нефтедобывающих территориях России, где на сотнях километров отсутствуют населенные пункты, в условиях "дикой природы" первостепенное значение приобретают сведения о влиянии на общебиологические показатели и оценка воздействий препарата на компоненты биоты, которые обеспечивают нормальное функционирование и восстановление нарушенных природных экосистем.

Ст. 47 Закона "Об охране окружающей среды", регламентирующая требования в области охраны окружающей среды при производстве, обращении и обезвреживании потенциально опасных веществ, указывает на необходимость проведения токсиколого-гигиенических и токсикологических исследований этих веществ и порядок обращения с ними. Сформулированные в общем виде схемы сертификации недостаточно проработаны в деталях. Перечни необходимых испытаний довольно неконкретны, нередко на практике требования к применению аналитиче-

Таблица 1. Показатели экологической токсичности

Метод анализа	Показатель
Определение токсичности отходов, почв осадков сточных, поверхностных, грунтовых и питьевых вод методом биотестирования с использованием равноресничных инфузорий <i>Paramecium caudatum</i> ФР 1.1.39.2003-00-923	Токсичность острая (ЛКР ₅₀₋₁), безвредная кратность разведения (БКР ₁₀₋₁)
Определение токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний <i>Daphnia magna</i> ФР 1.1.39.2001-00-283	Токсичность острая (ЛКР ₅₀₋₉₆), безвредная кратность разведения (БКР ₁₀₋₉₆), токсичность хроническая (ЛКР ₅₀₋₆₇₂)
Определение токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей <i>Scenedesmus quadricauda</i> ФР 1.1.39.2001-00-284	Токсичность острая (ЛКР ₅₀₋₉₆), безвредная кратность разведения (БКР ₂₀₋₉₆), токсичность хроническая (ЛКР ₅₀₋₆₇₂)
Определение токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний <i>Ceriodaphnia affinis</i> ФР 1.1.39.2001-00-282	Токсичность острая (ЛКР ₅₀₋₄₈), безвредная кратность разведения (БКР ₁₀₋₄₈), токсичность хроническая (ЛКР _{20-7c})

ских методик предлагаются санитарными и экологическими службами в разных вариантах, в зависимости от сферы ответственности и компетенции этих служб.

Формирующаяся система экологического нормирования вредных воздействий и диагностика экологического качества природных экосистем во многом опираются на данные биоиндикации и биотестирования. Биоиндикация включает анализ широкого набора биотических параметров в натуральных условиях, при этом мониторинговые наблюдения за компонентами экосистем (растениями, животными, микробными сообществами и т.п.) *in situ* позволяют дать оценку экологическим последствиям от повреждающих факторов, спрогнозировать развитие ситуации. Биотестирова-

ние проводится в лабораторных условиях с использованием стандартных тест-систем, которые позволяют выявить экологическую токсичность препаратов или образцов природных сред, испытанных воздействию таких факторов, а следовательно, выявить потенциальную опасность препаратов для природных объектов [3 — 5]. Отсю-



Рис. 1. Очистка поверхности воды (а) и агрегация нефти сорбентом "Сорбо-нафт" (б)



Рис. 2. Устройства и механизмы для распыления сорбента



Рис. 3. Образование на поверхности воды "окон", свободных от нефтепродуктов

да вполне объяснимо то большое внимание, которое уделяется в настоящее время оценке токсичности всевозможных препаратов, отходов, загрязненных природных сред и объектов в ходе лабораторных испытаний с помощью биотестов (Критерии

отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды, утвержденные приказом Министерства природных ресурсов России 15 июня 2001 г. № 511) [5].

В лаборатории экотоксикологического анализа почв

(ЛЭТАП) факультета почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова и Экспертно-аналитического центра по проблемам окружающей среды "Экотерра" (Научный парк МГУ) проведено биотестирование всех разработанных вариантов препаратов с целью характеристики их эколоксикологических свойств.

В настоящее время государственными природоохранными органами для задач экологического контроля рекомендованы несколько хорошо разработанных биологических тест-систем. Они имеют государственные свидетельства о метрологической аттестации и включены в Федеральный реестр (ФР) методик и так называемый реестр Природоохранных нормативных документов (ПНДФ). Перечень таких методик невелик, и основаны они главным образом на использовании тест-организмов из числа гидробионтов. Аттестованные лаборатории для полноценного анализа в соответствии с действующим приказом № 511 Минприроды должны иметь не менее двух тест-систем, которые включали бы тест-организмы из разных таксономических групп. Как правило, область аккредитации лабораторий охватывает достаточно широкий перечень объектов (природные среды, сырье, отходы) и как минимум 2 — 4 методики, которые позволяют выявлять как острую, так и хроническую токсичность (табл. 1). Так, в ЛЭТАП биотестирование проводится с использованием четырех тест-систем, при этом исследуется острая и хроническая токсичность по отношению к равноресничным инфузориям *Paramecium caudatum*, низшим ракообразным *Daphnia magna* и *Ceriodaphnia affinis*, а также зеленой протокочковой водоросли *Scenedesmus quadricauda*. По показателям 50 %-ной летальности тест-организмов за предписанный в соответствующей методике срок определяется токсичность или нетоксичность испытуемого образца. Эти методики предусматривают также определение безвредной кратности разведения (БКР) исследуемой воды или водного экстракта из твердого образца. На основании этого показателя можно судить о степени токсичности.

Таблица 2. Результаты биотестирования образцов биосорбента и нефтезагрязненных природных сред

Образец	Иммобилизованные микроорганизмы, штаммы (коллекция организации)	Тест-объект	Острое токсическое действие	Безвредная кратность разведения
Сорбонафт	Нет	<i>Daphnia magna</i>	Не оказывает	БКР ₁₀₋₉₆ = 1
		<i>Scenedesmus quadricauda</i>	То же	БКР ₂₀₋₉₆ = 1
Биосорбент + вариант ассоциации 1	<i>Rhodococcus erythropolis</i> , НК-16 ИБ, <i>Arthrobacter sp.</i> , НК-15 ИБ, <i>Candida lipolytica</i> , КБП -3308, <i>Candida guilliermondii</i> КБП - 3175, <i>Pichia guilliermondii</i> КБП - 3205	<i>Daphnia magna</i>	"	БКР ₁₀₋₉₆ = 1
		<i>Scenedesmus quadricauda</i>	"	БКР ₂₀₋₉₆ = 1
Биосорбент + вариант ассоциации 2	<i>Fusarium lateritium</i> , НК-204 ИБ, <i>Gliocladium deliquescens</i> , НК-205 ИБ, <i>Gliocladium deliquescens</i> , НК-206 ИБ (ИБ РАН)	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	"	БКР ₂₀₋₉₆ = 1
Биосорбент + вариант ассоциации 3	<i>Pseudomonas sp.</i> , A1, A3, A5; <i>Cellulomonas sp.</i> , A2, <i>Arthrobacter sp.</i> , A4 (ГНЦ ВБ "Вектор")	<i>Daphnia magna</i>	"	БКР ₁₀₋₉₆ = 1
		<i>Paramecium caudatum</i>	"	БКР ₁₀₋₁ = 1
Биосорбент + вариант ассоциации 4	<i>Zoogloea sp.</i> 14Н, <i>Arthrobacter sp.</i> 13Н, <i>Arthrobacter sp.</i> 15Н (ГНЦ ВБ "Вектор")	<i>Daphnia magna</i>	"	БКР ₁₀₋₉₆ = 1
		<i>Paramecium caudatum</i>	"	БКР ₁₀₋₁ = 1
Биосорбент + вариант ассоциации 5	<i>Arthrobacter sp.</i> , В164, ВР190, ВМ191 (ГНЦ ВБ "Вектор")	<i>Daphnia magna</i>	"	БКР ₁₀₋₉₆ = 1
		<i>Paramecium caudatum</i>	"	БКР ₁₀₋₁ = 1
Вода из природного водоема (содержание свежей нефти 1 %)	Нет	<i>Daphnia magna</i>	Оказывает	1 < БКР ₁₀₋₉₆ < 100
		<i>Paramecium caudatum</i>	То же	1 < БКР ₁₀₋₁ < 100
Почва через 1 мес. экспозиции (лабораторный эксперимент)*	<i>Cytophaga uliginosa</i> (каф. микробиологии МГУ), <i>Trichoderma harzianum</i> (ЛЭТАП)	<i>Daphnia magna</i>	"	1 < БКР ₁₀₋₉₆ < 100
Почва с Сорбонафтом через 1 мес. экспозиции (лабораторный эксперимент)*	<i>Trichoderma harzianum</i> (ЛЭТАП)	<i>Daphnia magna</i>	Не оказывает	БКР ₁₀₋₉₆ = 1

*Исходное содержание свежей нефти 15 %.

Проведенные исследования показали, что как чистый сорбент, так и образцы сорбента с иммобилизованными культурами микроорганизмов токсическими свойствами не обладают (табл. 2).

Следует отметить, что метод биотестирования позволяет характеризовать эффективность утилизации нефти микроорганизмами-биодеструкторами. Он дает надежные результаты при оценке степени деградации нефти и нефтепродуктов, аккумулярованных на сорбенте. Плохо разложившаяся нефть определяет наличие токсичности в стандартных тестах, в то время как переработанные нефтепродукты не оказывают токсического действия на тест-организмы (табл. 2). В экспериментах было показано также, что присутствие органоминерального сорбента в образцах нефтезагрязненных почв способствует более активному развитию микроорганизмов (в частности, *T. harzianum*) и ускорению процесса разложения

нефти и детоксикации нефтепродуктов [6].

Актуальная и успешно решаемая во многих областях народного хозяйства России проблема сертификации продукции, на наш взгляд, должна привлечь пристальное внимание специалистов природоохранной сферы. В настоящее время здесь недостаточно разработаны

принципы организации схем сертификации к продукции, используемой в этой области. А поскольку и санитарные, и экологические службы предъявляют свои, зачастую противоречащие друг другу требования, авторы природоохранных методов и препаратов оказываются в сложной ситуации на пути внедрения своих разработок.

Литература

1. Тулянкин Г.М., Жучихин Ю.С., Козьминых А.Н., Арчегова И.Б., Таскаев А.И., Репин В.Е., Пугачев В.Г. Разработка торфоминерального биосорбента и способа его применения для восстановления нефтезагрязненных природных объектов // Материалы Междунар. конф. "Проблемы биодеструкции техногенных загрязнителей окружающей среды". Саратов, 14 — 16 сентября 2005 г.
2. Терехова В.А. Биоиндикационное значение микромицетов в экологической оценке водных и наземных экосистем // Автореф. дис. ...докт. биол. наук. М.: МГУ. 2004.
3. Методы биотестирования качества водной среды / Под ред. О.Ф. Филленко. М.: Изд-во МГУ, 1989.
4. Руссо Р.С. Информационная система по токсичности стоков сложного состава // Проблемы водной токсикологии, биотестирования и управления качеством воды. Л., 1986.
5. Терехова В.А. Биотестирование как метод определения класса опасности отходов // Экология и промышленность России. 2003. Декабрь.
6. Попутникова Т.О., Терехова В.А., Ибатуллина И.З., Пацаева С.В., Хомякова Д.В. Анализ совместимости и нефтедеградационной способности почвенных микромицетов и бактерий // Материалы Междунар. конф. "Проблемы биодеструкции техногенных загрязнителей окружающей среды". Саратов, 14 — 16 сентября 2005 г. ■