

Биотестирование при разработке нетрадиционных биоремедиантов

И.Э. Шарапова¹, Н.Г. Рачкова¹, Е.В. Удоратина²

¹ Институт биологии Коми НЦ УрО РАН;

² Институт химии Коми НЦ УрО РАН;

В настоящее время эффективным методом оценки потенциальной опасности химического, физического или биологического воздействий на экосистему считается биотестирование. Биотестирование осуществляется экспериментально с использованием, как правило, стандартизованных лабораторных тест-систем, путем регистрации изменений биологически важных показателей (тест-реакций) под воздействием исследуемых проб. В последующем оценивается состояние биологических систем в соответствии с выбранными критериями токсичности. Для почв рассматриваются различные сферы методологического подхода биотестирования и контроля: природоохранная, сельскохозяйственная, санитарно-эпидемиологическая. О расширении исследований в области биологического контроля свидетельствует динамика публикаций, отражаемых в реферативно-библиографической базе данных Института научной информации США (ISI) Web ofScience (<http://isiknowledge.com/>).

Для обозначения основных элементов, составляющих тест-систему, в русскоязычных источниках широко применяются термины тест-объект и тест-культура (или тест-организм). При этом тест-объект правильно трактовать как пробу или образец, который подвергается исследованию и оказывает воздействие, вызывая тест-реакцию. Фактически живая система (популяции культуры клеток, организмы или их элементы) выполняет функции чувствительного датчика, получающего сигнал от воздействующего объекта. Поэтому, подобно тому, как это принято в англоязычной литературе, применительно к этому элементу тест-системы логично употреблять термин «сенсор». Чувствительность сенсоров контролируется по модельному токсиканту (аналог «стандартного образца» в аналитических химических измерениях), регламентированному соответствующей стандартизованной методикой. Под термином «тест-организм» предлагается подразумевать систематическое наименование вида организма, элементы или целые особи которого используются в качестве сенсоров.

Цели биотестирования различны в разных сферах приложения [1, 2, 3]. Биотесты проводятся для определения общей токсичности, мутагенности и канцерогенности. Воздействие в тест-системе измеряется посредством имитации возможных путей поступления вредного вещества в организм, поэтому основными тестируемыми объектами являются водные среды. В качестве биологических чувствительных сенсоров выступают

гидробионты: простейшие, водоросли, ракообразные, моллюски, рыбы и др. Изучение токсичности твердых компонентов окружающей среды (почв, донных осадков, грунтов, отходов и т.п.) считают опосредованным способом воздействия на биосенсор [4]. В этом случае используют водные вытяжки или поровые воды указанных сред.

Необходимость диагностики качества почвы (водных сред) по биотическим показателям обоснована тесной взаимозависимостью «косного» и «биологического» начал. Биотические показатели могут дать информацию о трансформировании экосистемы, о состоянии организмов и степени приемлемости воздействий для сохранения разнообразия форм жизни и их сбалансированного развития [5]. Это особенно важно при разработке новых природоохранных технологий, направленных на восстановление и ремедиацию нарушенных (загрязненных) объектов с использованием нетрадиционных биоремедиантов (материалов, являющихся основой средств защиты и рекультивации).

Для рекультивации нарушенных земель достаточно широко применяются в качестве биоремедиантов нетрадиционные материалы на основе отходов производства и потребления. Биоремедиантами могут считаться и биосорбенты, а также материалы, которые служат основой или содержат, в том числе, биологический (органический) компонент. Создание таких биоремедиантов достаточно актуально, так как позволяет решить ряд экологических проблем. Во-первых, получить новые композиции, обладающие хорошими мелиорирующими, удобрительными или сорбционными свойствами, для использования на почвах и водных объектах, нуждающихся в реабилитации, во-вторых, решается проблема утилизации отходов. Однако существует определенная опасность негативных последствий применения нетрадиционных биоремедиантов. В результате взаимодействия компонентов созданные композиции, помимо положительных свойств, нередко приобретают нежелательные характеристики, в частности – токсичность. Также повышается возможность и риск вторичного загрязнения при внесении биоремедиантов, созданных на основе недостаточно обезвреженных промышленных отходов, которые входят в состав разрабатываемых материалов, или если в технологии обработки и получения новых материалов с использованием сырья в виде различных отходов потребления применяются химические реагенты. Поэтому при использовании подобных биоремедиантов необходимо обеспечить экологическую безопасность для окружающей среды и провести предварительные исследования, определяющие степень безопасности новых нетрадиционных материалов и биоремедиантов.

Так для очистки водных объектов от нефтяных углеводородов (НУГВ) (локализация и/или извлечение с водной поверхности загрязнителя) широко применяются различные сорбенты. Почвенно-климатические особенности региона и экономические показатели

(нормы расхода при конкретных дозах загрязнения) определяют преимущества и недостатки способов биоремедиации. Известно, что биоремедиация нефтезагрязненных водных и почвенных объектов в условиях Севера представляет собой особую трудность и традиционные подходы не всегда могут быть применены [6]. Поэтому необходима разработка новых нетрадиционных сорбентов (биоремедиантов). При этом экологически целесообразным является использование многотоннажных отходов деревообрабатывающей промышленности и сельского хозяйства: лигноцеллюлоза древесного и травянистого происхождения, вторичное целлюлозосодержащее сырье, которые доступны для биотрансформации-биоразложения при применении.

В связи с этим цель данной работы заключалась в биотестировании нефтезагрязненной водной среды при очистке в модельных условиях с применением в качестве биоремедианта гидрофобного целлюлозосодержащего сорбента.

Нефть и нефтепродукты являются основными и наиболее опасными токсикантами, поступающими в водные экосистемы. По данным [7], токсический эффект на *Daphnia magna* Straus снижается в ряду: дизельное топливо > нефть > бензин А-76 > водные вытяжки из бензина А-95 > водные вытяжки из бензина А-76. Более высокую токсичность неосвинцованного бензина и дизельного топлива (ДТ) связывают с присутствием в них легких водорастворимых фракций [8]. Поэтому в качестве экотоксиканта в исследованиях использовали наиболее токсичное для гидробионтов ДТ (ГОСТ Р 52368-2005 (ЕН 590:2004)).

Основу гидрофобного целлюлозосодержащего сорбента [9] составлял полуфабрикат целлюлозно-бумажного производства – техническая целлюлоза (ОАО «Монди Сыктывкарский ЛПК»), которую пропитывали растворами гидрофобизирующего реагента с последующим осаждением последнего комплексной солью. Обработанный целлюлозный материал обладает высокой нефтеемкостью, олеофильностью и неограниченной плавучестью. Испытание сорбента в лабораторных условиях проводили в течение 60 суток с использованием воды, отобранной из реки Сысола (г. Сыктывкар). Концентрация ДТ – 0,25% от объема воды. Контроль – загрязненная ДТ вода. Общепринятыми методами были определены показатели содержания НУГВ в воде [10], численность трофических групп микроорганизмов [11]. Оценку токсического воздействия загрязнения ДТ водной среды во всех вариантах опыта провели путём исследования острой токсичности на тест-объекте *Daphnia magna* Straus [12].

Основным показателем эффективности очистки загрязненной нефтепродуктами водной среды с использованием сорбентов является снижение содержания НУГВ в воде, связанное с процессами сорбции-десорбции. Учитывая то, что был использован волокнистый целлюлозосодержащий сорбент, поверхность которого обработана для гидрофобизации

химическими реагентами, исследование заключалось в определении показателя смертности тест-культуры с оценкой степени токсичности, эффективности применяемого сорбента и концентрации загрязнителя в водной среде. Результаты наблюдения представлены в таблице.

Некоторые показатели токсичности водной среды и концентрации НУГВ

Наименование показателя	Единица измерения	№0 вариант – Незагрязненная вода		№1 вариант: Вода + ДТ (контроль)		№2 вариант: Вода + ДТ + Сорбент	
		3 сут.	60 сут.	3 сут.	60 сут.	3 сут.	60 сут.
Нефтепродукты (НУГВ)	мг/дм ³	0,005± 0,002	0,005 ± 0,002	27,68 ± 6,92	27,91 ± 4,48	2,74 ± 0,68	1,18 ± 0,29
Численность микроорганизмов гетеротрофов	Тыс. КОЕ/мл	0,7 ± 0,2	1,08 ± 0,3	0,1 ± 0,3	2,9 ± 0,5	0,3 ± 0,3	2,0 ± 0,4
Смертность дафний / (токсичность воды)	% (-/+)	<u>0</u> (-)	<u>0</u> (-)	<u>90</u> (+)	<u>100</u> (+)	<u>53</u> (+)	<u>6</u> (-)

Примечание: (-) – Не оказывает острого токсического действия; (+) – Оказывает острое токсическое действие

Проведенные исследования показали эффективность применения гидрофобного целлюлозосодержащего сорбента в воде, загрязненной наиболее токсичными нефтепродуктами, с обеспечением их локализации-сорбции. Показатели смертности дафний в варианте №2 уже в начале эксперимента оказались значительно ниже, чем в контроле, т.к. основная масса загрязнителя (ДТ) адсорбирована в гидрофобном сорбенте. По окончании опыта наилучший результат по количеству жизнеспособных дафний отмечен именно в этом варианте (смертность тест-культуры менее 10% по сравнению с контролем - 100%). Биотестирование показало, что гидрофобизированный химическими реагентами сорбционный материал не оказывал токсического воздействия в процессе очистки от углеводородов ДТ, а также перспективен в качестве основы для биоремедиантов и для последующего применения в процессах очистки-ремедиации различных нефтезагрязненных объектов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного задания «Разработка биокаталитических систем на основе ферментов, микроорганизмов и растительных клеток, их иммобилизованных форм и ассоциаций для переработки растительного сырья, получения биологически активных веществ, биотоплива, ремедиации загрязненных почв и очистки сточных вод» АААА-А17-117121270025-1 и ООО «АГРОХИМ-БИОТЕХ».

Список литературы

1. Филенко О.Ф. Область применения методов биотестирования // Методы биотестирования качества водной среды. М.: Изд-во Моск. Ун-та, 1989. С. 119–122.
2. Терехова В.А. Биоиндикация и биотестирование в экологическом контроле. Использование и охрана природных ресурсов в России // Информационно аналитический бюл. 2007. № 1 (91). С. 88–90.
3. Dubova L., Zarina Dz. Application of toxkit microbiotests for toxicity assessment in soil and compost // *Environmental Toxicology*. 2004. V. 19. № 4. P. 274–279.
4. Опекунов А.Ю. Экологическое нормирование и оценка воздействия на окружающую среду. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2006. 260 с.
5. Структурно-функциональная роль почв и почвенной биоты в биосфере / Под ред. Г.В. Добровольского. М.: Изд-во Моск. Ун-та, 2003. 364 с.
6. Foght J.M., Westlake D.W.S. Bioremediation of oil spills // *Spill Technol. Newsletter*. – Environment Canada. – Ottawa, 1992. – V. 17. – P. 1-10.
7. Ратушняк А.А., Андреева М.Г., Латыпова В.З., Гарипова Л.Г. Токсическое действие нефти и продуктов ее переработки на *Daphnia magna* Straus // *Гидробиол. журн.* – 2000. – С. 33.
8. Belfroid A.C., Sijm D.T.H.M., Van Gestel C.F.M. Bioavailability and toxicokinetics of hydro-phobic aromatic compounds in benthic and terrestrial invertebrates // *Environ. Rev.* – 1996. – Vol.4, №4. – P 276-299.
9. Патент №2097123 РФ. Способ получения абсорбента для очистки водных поверхностей от загрязнений нефтью, нефтепродуктами и органическими растворителями / Кучин А.В., Магий М.Ю., Демин В.А., Куковицкий Б.Ф., Давыдов В.Д. / Заявл. 26.03.1996; опубл. 27.11.1997.
10. Методика выполнения измерений массовой концентрации нефтепродуктов в пробах природных, питьевых, сточных вод флуориметрическим методом на анализаторе жидкости «Флюорат-02». ПНД Ф 14.1:2:4.128-98. – М., 1998. – 15 с.
11. Градова Н.Б., Бабусенко Е.С., Горнова И.Б., Гусарова Н.А. Лабораторный практикум по общей микробиологии. – М., 1999. – 130 с.
12. Методика определения острой токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по смертности дафний (*Daphnia magna* Straus). ПНД Ф Т 14.1:2:4.12-06; Т 16.1:2.3:3.9-06. – М., - 2006. – 45 с.