

УДК 504.054:543.95

DOI: 10.15372/ChUR2019148

## Оценка острой и хронической токсичности реагентов для обработки нефтезагрязненных почв и нефтешламов

О. А. КУЛИКОВА<sup>1</sup>, Е. А. МАЗЛОВА<sup>1</sup>, В. А. ТЕРЕХОВА<sup>2,3</sup>, М. В. АГАДЖАНЯН<sup>1</sup>, П. В. УЧАНОВ<sup>4</sup><sup>1</sup>Российский государственный университет нефти и газа (НИУ) им. И. М. Губкина, Москва (Россия)

E-mail: kulikovaao@bk.ru

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва (Россия)<sup>3</sup>Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова, Москва (Россия)<sup>4</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, Москва (Россия)

(Поступила 08.12.18; после доработки 10.02.19)

### Аннотация

Проведена оценка острой и хронической токсичности ряда реагентов на основе поверхностно-активных веществ, применяемых для обработки нефтезагрязненных грунтов и нефтешламов. С помощью биотестирования по реакциям высших растений и беспозвоночных животных сделан вывод о возможности применения эффективных и безопасных для экосистем концентраций испытанных реагентов. Установлены действующие концентрации веществ при оценке фитоэффектов по ингибированию развития двух видов тест-растений: редьки масличной (*Brassica rapa CrGCs* syn. Rbr) и овса посевного (*Avena sativa* L.), а также по выживаемости стандартизованной тест-культуры простейших – инфузорий (*Paramecium caudatum* Ehrenberg).

**Ключевые слова:** поверхностно-активные вещества, реагентная обработка, нефтезагрязненные почвы, нефтешламы, биотестирование, экотоксичность

### ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение объектов окружающей среды нефтью и нефтепродуктами остается серьезной проблемой при обеспечении экологической безопасности и устойчивого развития экосистем и природных комплексов. Среди разнообразных способов очистки природных сред и техногенных субстратов большое внимание уделяется промывке нефтезагрязненных почв и грунтов реагентами – горячими растворами поверхностно-активных веществ (ПАВ). Этот способ реализуется в соответствии с ГОСТ Р 57447–2017 “Наилучшие достижения технологии. Рекуль-

тивация земель и земельных участков, загрязненных нефтью и нефтепродуктами. Основные положения”. В числе известных и широко применяемых реагентов, а также среди стремительно появляющихся на рынке новых соединений и веществ, которые рекомендованы производителями для очистки почвогрунтов от нефтепродуктов, немало таких, которые сами могут оказаться небезопасными для экосистем в окружающей среде. Возможное вторичное загрязнение горячими реагентами на основе ПАВ крайне редко обсуждается при обосновании их применения для очистки от нефти и нефтепродуктов нефтешламов, почв, грунтов.

В законодательной базе не предусмотрена оценка химических реагентов по показателям их экотоксичности для наземных систем, тогда как для водных действуют ГОСТ 32419–2013, ГОСТ 32425–2013. К немногочисленным документам, регулирующим применение потенциально токсичных реагентов, можно отнести Технический регламент Евразийского экономического союза “О безопасности химической продукции” (ТР ЕАЭС 041/2017), а также проект Технического регламента Таможенного союза “О безопасности синтетических моющих средств и товаров бытовой химии” (ТР ТС \_\_/2013), в котором не допускается использование реагентов, относящихся к 1 и 2 классам опасности.

В странах Европы с 1 июня 2007 г. действует специализированный регламент Европейского союза REACH (Registration, Evaluation, Authorisation of Chemicals). Он установил требования к экотоксикологической безопасности химической продукции и обязал производителей проводить экологические и токсикологические тесты выпускаемых реагентов. Однако такая практика пока не применяется должным образом в РФ.

Как следствие, в настоящее время нет прямых нормативных требований для оценки экологической безопасности реагентов, применяемых для очистки нефтезагрязненных грунтов (НЗГ) и переработки нефтешламов (НШ). Однако очевидно, что экологическая безопасность применения определенных концентраций реагентов на основе ПАВ, используемых в этих процессах, должна быть аргументирована.

В мировой практике такая оценка ПАВ осуществляется с использованием различных вариантов биотестирования [1–4]. Результаты тестов дают важные для сохранения всего живого критерии выбора реагента для обработки НЗГ [5]. Сложность заключается в том, что в разных тестовых системах тест-организмы не всегда синхронно и однозначно реагируют на однотипные воздействия.

Действующие в РФ критерии определения токсичности отходов предполагают применение двух видов тест-организмов гидробионтов, относящихся к различным таксономическим группам (Приказ Министерства природных ресурсов и экологии РФ от 4 декабря 2014 г. № 536 “Об утверждении Критериев отнесения отходов к I–V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду”). Мы считаем, что эффективность оценки токсичности нефтесодержащих субстратов по реакции только гидробионтов, которая представляет со-

бой характеристику влияния водной вытяжки из нефтесодержащих образцов на водные организмы, низка. С подобными субстратами целесообразно проводить анализ взаимодействия твердых образцов и тест-организмов в непосредственном контакте.

Ранее не проводились сопоставления откликов биотест-систем при анализе экотоксичности реагентов, содержащих ПАВ различной природы, на основе аппликатного (при добавлении в почву) и элюатного (водных растворов) способов биотестирования.

Цель работы – охарактеризовать экотоксичность реагентов, рекомендуемых для обработки НЗГ и НШ, в вариантах острого и хронического фитотестирования, а также по реакции гидробионтов – тест-культуры простейших – инфузорий. Результаты такого исследования позволят выработать подход к выбору действующих концентраций экологически безопасного реагента, обеспечивая эффективность его применения на разных этапах использования нефтесодержащих субстратов.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Материалы

В качестве материала исследования выбран ряд марок реагентов, содержащих различные ПАВ (табл. 1). Индивидуальным веществом сравнения служит NaOH, применяемый в качестве обезжиривающего реагента во многих технологических процессах.

### Методы и методики исследования

Оценку фитотоксичности реагентов, содержащих ПАВ, проводили по реакциям двух видов высших растений: быстрорастущая редька масличная (*Brassica rapa* CrGC syn. Rbr) и овес посевной (*Avena sativa* L.) в двух вариантах исполнения фитотестирования.

Хроническую фитотоксичность определяли согласно ГОСТ Р ИСО 22030–2009 и ISO 11269-2:2012 в вегетационных сосудах. В качестве тест-функций анализировали показатели роста и развития проростков семян растений (зеленая масса растений, длина ростков, длина корней). Продолжительность эксперимента – 14 сут, согласно ISO 11269-2:2012. Исходные показатели всхожести семян выбранных для эксперимента растений соответствовали ГОСТ 12038–84 и составляли 97.5 % для быстрорастущей редьки и 94.5 % для овса посевного.

ТАБЛИЦА 1

Характеристики исследуемых реагентов

Номер ПАВ	Марка ПАВ-содержащего реагента	Класс ПАВ*	Характеристика вещественного состава
1	Сульфонол НП-1 [6]	АПАВ	Алкилбензолсульфонат (C <sub>12</sub> -C <sub>14</sub> ), смесь изомеров натриевых солей алкилбензолсульфокислот
2	Нефтенол МЛ [7]	АПАВ + НПАВ	Многокомпонентная композиция
3	БОК-6	НПАВ	Смесь НПАВ (≤5 %), сода кальцинированная (≥80 %), натрия сульфат (≤10 %), натрия метасиликат (≤5 %)
4	Вега ЧМ [8]	НПАВ	То же
5	ОП-10 [9]	НПАВ	Продукты обработки смеси моно- и диалкилфенолов оксидом этилена
6	АддиМакс ПВ01 [10]	АПАВ	Глицерилсульфонаты (алкилированные спирты)
7	АддиМакс ПВ02 [10]	АПАВ	То же
8	Стенор 25Р15Е10 [11]	НПАВ	ППГ-15/ПЭГ-10 Этокселированные, пропокселированные спирты фракции C <sub>12</sub> -C <sub>15</sub>
9	Синтанол АЛМ-7 [12]	НПАВ	Смесь первичных оксипропилированных высших жирных спиртов фракций C <sub>12</sub> -C <sub>14</sub>

\* АПАВ – анионные ПАВ, НПАВ – неионогенные ПАВ.

Для установления фитотоксичных концентраций реагентов аппликатным способом в вегетационных сосудах использовали грунт “Жирнозем” марки PeterPeat (Россия) на основе верхового и низинного торфа с добавлением агроперлита, речного песка, известняковой муки и комплексного минерального удобрения. Торфяной грунт был предварительно просушен, затем просеян через сито для удаления крупной фракции и включений размерами ≥5 мм.

Острую фитотоксичность определяли планшетным способом в тест-системе “Фитоскан” согласно нормативно-технической документации (НТД) ФР.1.31.2012.11560 “Методика измерений биологической активности гуминовых веществ методом фитотестирования”. Семена помещали в прозрачные пластиковые планшеты на подложку из фильтровальной бумаги, обработанную испытуемым раствором с реагентом или дистиллированной водой (контроль).

По истечении 96 ч экспозиции измеряли длину корней и ростков и устанавливали степень токсичности по соотношению значений тест-параметров в опытных (ПАВ-содержащий реагент) и контрольных вариантах.

Определение экотоксичности выбранных ПАВ-содержащих реагентов проводили в тест-системе с пресноводными инфузориями (*Paramecium caudatum* Ehrenberg) согласно НТД ФР.1.39.2006.02506 “Методика определения токсичности отходов, почв, осадков сточных, поверхностных и грунтовых вод методом биотестирования

с использованием равноресничных”. В качестве тест-функции оценивали выживаемость особей в пробах после 24 ч экспозиции.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе фитотестирования, проведенного в соответствии с ГОСТ Р ИСО 22030–2009, определены токсические эффекты анализируемых реагентов сравнением биомассы свежесрезанных и высушенных растений, выращенных в испытательных сосудах с загрязненной почвой, с данными холостого опыта.

На рис. 1 представлены результаты оценки хронической фитотоксичности ПАВ-содержащих реагентов по реакции редьки масличной. Видно, что растение обладает довольно слабой чувствительностью к тестируемым реагентам. Следует отметить, что в большинстве экспериментов наблюдалось явление гормезиса – стимуляции тестируемых параметров относительно невысокими концентрациями реагента.

Установлено активирующее влияние на биомассу растений двух исследуемых ПАВ-содержащих реагентов – Синтанол АЛМ-7 и АддиМакс ПВ01, обладающих схожим химическим составом, в основе которого высшие синтетические алкилированные спирты.

Воздействие на биомассу растений реагента Вега ЧМ и вещества сравнения NaOH сопоставимо, что соотносится с щелочной природой реагента. Растворы БОК-6 также характеризуются

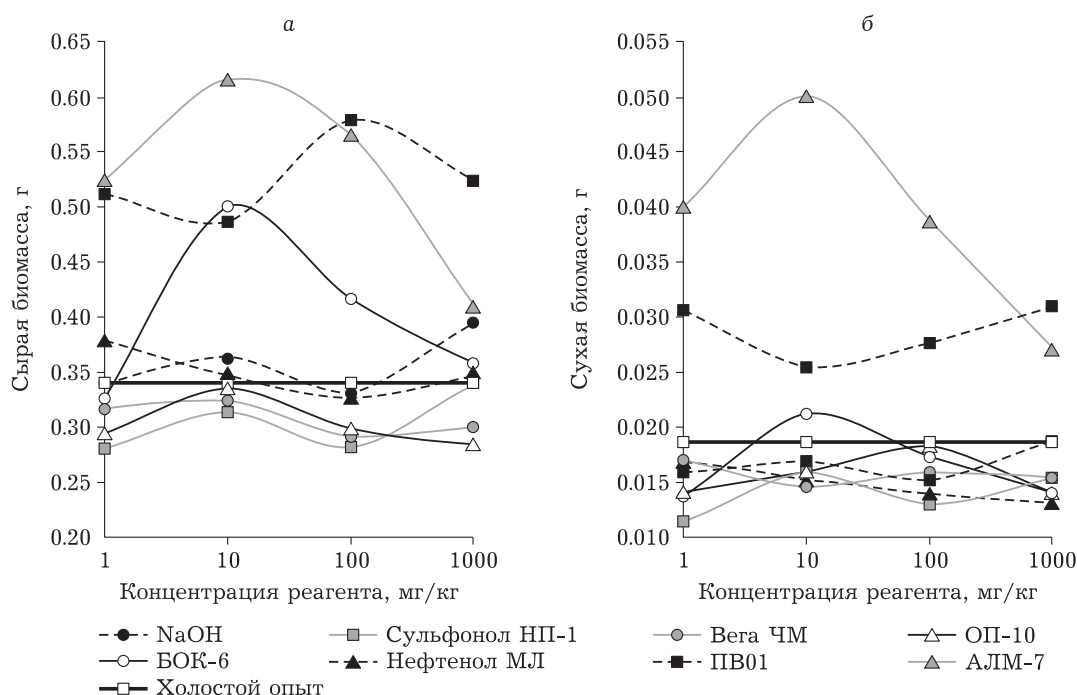


Рис. 1. Зависимость сырой (а) и сухой (б) биомассы редьки масличной от содержания реагента в грунте.

ся высокой щелочностью (рН 11.72), однако их негативное воздействие менее выражено:

На рис. 2 представлены результаты оценки хронической фитотоксичности ПАВ-содержащих реагентов по реакциям овса посевного.

По сравнению с редькой масличной овес продемонстрировал большую чувствительность к

воздействию реагентов. Особенно ярко это иллюстрирует график со свежесрезанными ростками (см. рис. 2, а). Реагенты БОК-6, Вега ЧМ благодаря щелочной природе компонентного состава (см. табл. 1) имеют схожие зависимости с веществом сравнения NaOH и аналогично Нефтенолу и Сульфенолу НП-1 проявляют угнета-

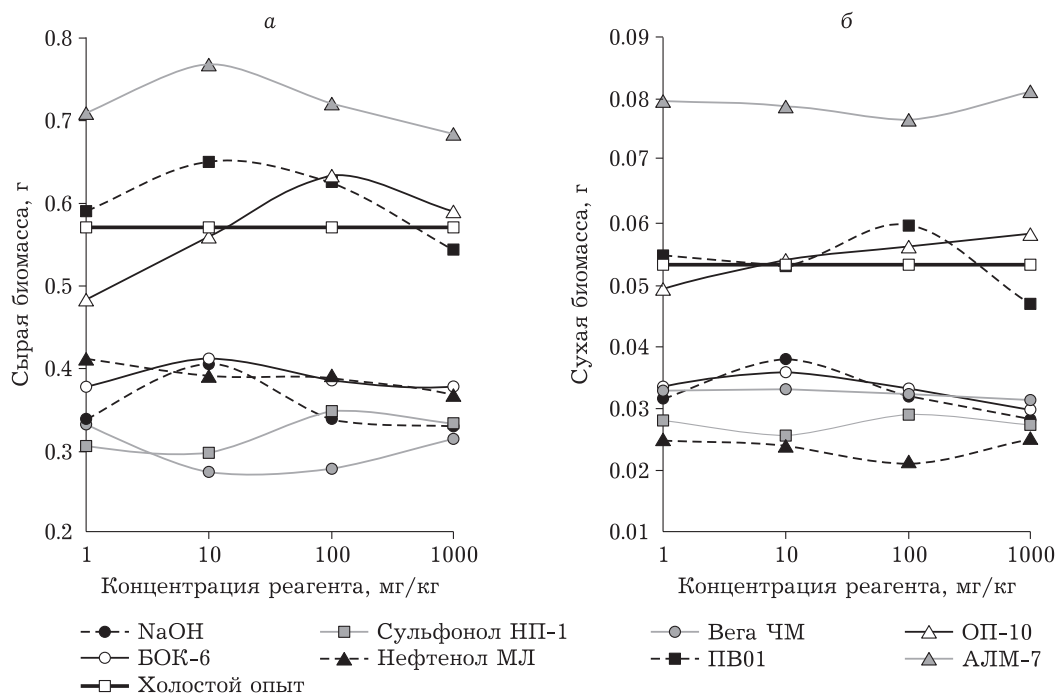


Рис. 2. Зависимость сырой (а) и сухой (б) биомассы овса посевного от содержания реагента в грунте.

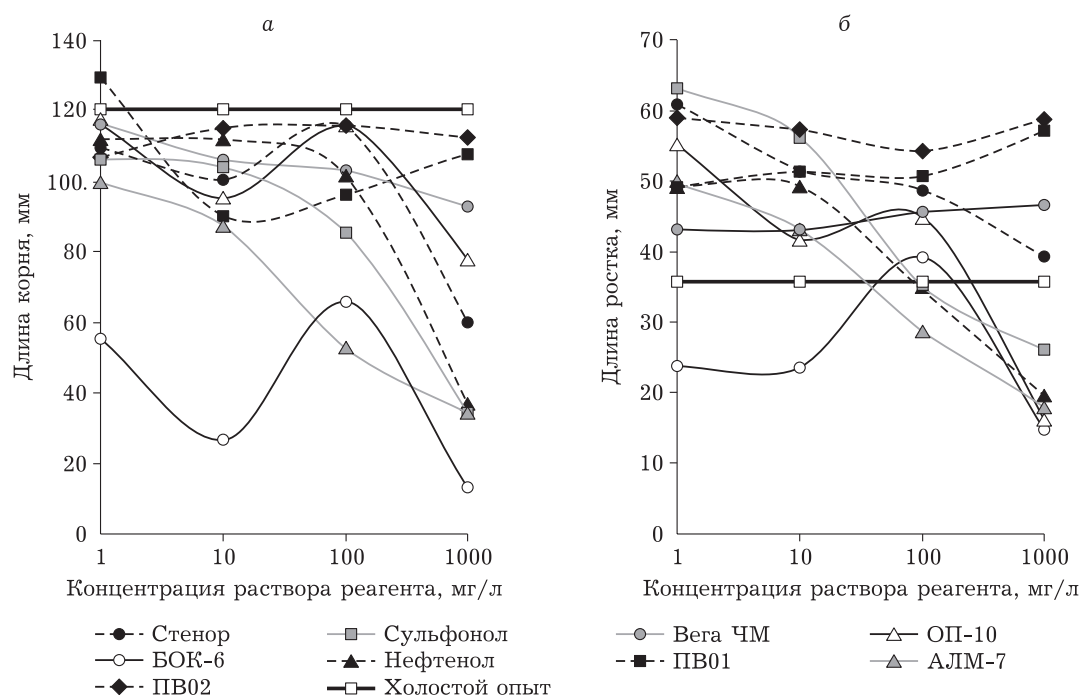


Рис. 3. Результаты оценки острой фитотоксичности в тест-системе “Фитоскан”, тест-растение – редька масличная: а – сырая, б – сухая биомасса.

ющее воздействие. Напротив, реагенты АддиМакс ПВ01, Синтанол АЛМ-7 и ОП-10 оказали стимулирующее действие.

По результатам вегетационного эксперимента можно утверждать, что большая чувствительность к ПАВ-содержащим реагентам характерна для овса посевного. Тем не менее обнаружено сходство в динамике откликов биомассы и редьки, и овса при одних и тех же концентрациях ряда реагентов. Стимулирующее воздействие на оба вида тестовых растений проявили реагенты АддиМакс ПВ01 и Синтанол АЛМ-7, а в эксперименте с овсом – ОП-10.

Результаты исследований острой фитотоксичности в тест-системе “Фитоскан” приведены на рис. 3 и 4.

При анализе показателей тест-параметра “средняя длина корней” для редьки масличной установлено ингибирующее действие всех применяемых реагентов с различной степенью воздействия. Наименьшее влияние оказали реагенты АддиМакс ПВ01, ПВ02 и ОП-10. При этом зависимости не являются монотонными. Следовательно, проведение тестирования по данной методике также демонстрирует явление гормезиса. Реагент Синтанол АЛМ-7, в отличие от исследований его хронической фитотоксичности по ГОСТ 22030–2009 и ISO 11269-2:2012, показал ярко выраженный отрицательный фитозаффект. Это мо-

жет быть связано с различным воздействием реагента на параметры роста и развития растения – угнетение одних параметров с одновременной стимуляцией других. Наибольшее ингибирующее воздействие проявил реагент БОК-6.

Тест-параметр “средняя длина ростков” оказался менее чувствительным. В большинстве экспериментов выявлен положительный фитозаффект с сохранением тенденций воздействия реагента на растение.

Отклики проростков семян овса и редьки в планшетном варианте опыта во многом схожи. Реагент БОК-6 оказывает максимальное ингибирующее воздействие, АддиМакс ПВ02, Вега ЧМ – наименьший отрицательный фитозаффект.

Важно отметить, что растения овса посевного по сравнению с редькой масличной оказались более чувствительными к обработке реагентами по всем тест-функциям. Это подтверждает целесообразность выбора именно *Avena sativa* в качестве тест-культуры в НПД МР 2.1.7.2297–07 “Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности”.

Исследования экологической токсичности реагентов с использованием тест-культуры простейших проводили по средней летальной концентрации ( $ЛК_{50-24}$ ), вызывающей гибель 50 % тест-организмов за 24 ч экспозиции, и по безвредной концентрации ( $БК_{10-24}$ ), вызывающей

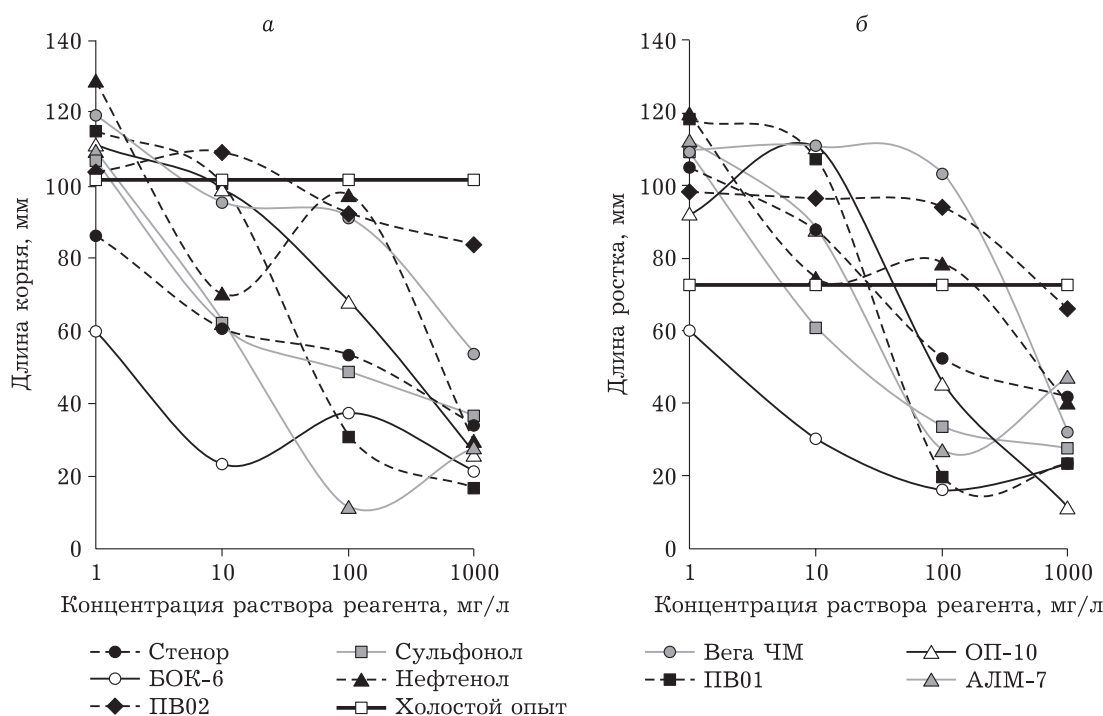


Рис. 4. Результаты оценки острой фитотоксичности тест-системы "Фитоскан", тест-растение – овес посевной: а – длина корня, б – длина ростка.

ТАБЛИЦА 2

Результаты определения токсичности реагентов в отношении пресноводных инфузорий

Марка ПАВ-содержащего реагента	Средняя летальная концентрация ЛК <sub>50-24'</sub> , мг/л	Безвредная концентрация БК <sub>10-24'</sub> , мг/л
БОК-6	0.1	н/о
Вега ЧМ	0.1	н/о
Сульфенол НП-1	1	0.1
ОП-10	0.1	н/о
АддиМакс ПВ01	1000	100
АддиМакс ПВ02	100	0.1
Нефтенол МЛ	100	0.1
Синтанол АЛМ-7	1	н/о
Стенор 25P15E10	н/о (более 1000)	н/о

Примечание. Н/о – не определена в рамках проведения испытания.

гибель не более 10 % тест-организмов за тот же период. Результаты исследований представлены в табл. 2.

Установлено, что реагент АддиМакс ПВ01 – один из самых безвредных по показателю выживаемости инфузорий. Не удалось установить пороговые концентрации для характеристики токсичности и реагента Стенор 25P15E10, все исследуемые его концентрации для инфузорий оказались безвредными. В то же время другие анализируемые реагенты характеризуются достаточно высоким показателями токсичности.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты оценки экотоксичности ПАВ-содержащих реагентов в разных биологических тестах показали, что тест-культура овса посевного проявляет более высокую чувствительность к стимулирующим эффектам как в остром элюатном, так и в хроническом аппликационном эксперименте. Можно рекомендовать этот вид тест-растений для установления эффективных недействующих концентраций ПАВ-содержащих реагентов при использовании обработанных этими веществ-

вами нефтесодержащих твердых субстратов, которые предполагается размещать в окружающей среде, в том числе вблизи водных объектов.

Согласно действующим в нашей стране критериям определения класса опасности отходов, которые при определенных условиях могут выступать субстратами для растений, достаточно иметь результаты оценки токсичности по реакциям двух тест-организмов. В нашей работе использованы два вида тест-растений и стандартизованная тест-культура простейших. На основе полученных результатов представляется возможным выбрать из числа исследованных наименее токсичные для окружающей среды марки ПАВ-содержащих реагентов и применять их в процессах очистки нефтезагрязненных природных грунтов. Очищенные с помощью таких веществ до приемлемых уровней остаточного содержания нефтепродуктов природные грунты можно возвращать в окружающую среду для дальнейшей биоремедиации, в том числе с участием растений. Высокая экотоксичность ( $JK_{50-24} = 0.1-1.0$  мг/л) некоторых ПАВ-содержащих реагентов, обладающих вместе с тем высокой эффективностью [13], указывает на то, что данные препараты следует использовать ограниченно – например, для очистки нефтешламов, которые не планируется возвращать в окружающую среду.

Полученные результаты исследований свидетельствуют о необходимости контроля остаточно-

го содержания реагентов в грунтах, возвращаемых в окружающую среду или дальнейшее использование которых связано с потенциальной возможностью вымывания токсичных химических соединений и попадания в природную среду.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Ying G.-G. // Environ. Int. 2006. No. 32. P. 417–431.
- 2 Cserhati T., Forgacs E., Oros G. // Environ. Int. 2002. No. 28. P. 337–348.
- 3 Parr J. F., Norman A. G. // Am. Soc. Plant Biol. 1964. P. 502–507.
- 4 Поклонов В. А., Котелевцев С. В., Остроумов С. А. // Успехи наук о жизни. 2013. № 6. С. 71–78.
- 5 Zubair A. Design and Optimization of Surfactant Based Enhanced Remediation of Bunker Fuel Oil Contaminated Soil. St. John's, Newfoundland, Canada, 2015. 182 p.
- 6 Шейхет Ф. И. Материаловедение химикатов, красителей и моющих средств. М.: Легкая индустрия, 1969. С. 166.
- 7 ТУ 2481-056-17197708–2000 Моющее ПАВ НЕФТЕНОЛ М.Л. М., 2005. 10 с.
- 8 Техническое моющее средство “ВЕГА-ЧМ-01” [Обзор представлен производителем ООО “Чистый Мир М”]. 5 с.
- 9 ГОСТ 8433–81 Вещества вспомогательные ОП-7 и ОП-10. Технические условия. М., 1981. 14 с.
- 10 Паспорт № 014 Поверхностно-активные вещества АддиМакс ПВ01, АддиМакс ПВ02 [Паспорта представлены производителем ООО “Завод синтанолов”]. 2 с.
- 11 Паспорт № 91 Стенор 25P15E10 [Паспорт представлен производителем ООО “Завод синтанолов”]. 1 с.
- 12 ТУ 2483-004-71150986–2012 Синтанол АЛМ-7 и Синтанол АЛМ-8 (СинтаНорм ТМ АЛМ-7 и АЛМ-8) [Электронный ресурс]. URL: <http://docs.cntd.ru/document/437155836> (дата обращения: 06.06.2018).
- 13 Куликова О. А., Мазлова Е. А., Брадик Д. И., Кудрова Е. П. // Химия и технология топлив и масел. 2018. № 6. С. 47–52.

