

ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ВПЛИВУ НАФТОПРОДУКТІВ НА ДОЦОВИХ ЧЕРВІВ *EISENIA FOETIDA* (Savigny, 1826) (огляд літератури та дані власних досліджень)

О. В. Безкровна, к.біол.наук, А. О. Кліщенко

Державний вищий навчальний заклад "Київський університет управління та підприємництва, м. Київ

РЕЗЮМЕ. У лабораторних умовах визначено токсичність нафтопродуктів: бензину, дизельного палива і машинного масла. Дощові черви мають компенсаторні механізми до впливу низьких концентрацій бензину: збільшення трофічної активності та маси. Під впливом нафтопродуктів відбуваються морфологічні зміни червів: знебарвлення, ослизнення, розм'якшення. У досліді з бензином для дощових червів встановлено $LD_{50}=2167$ мг/кг ґрунту; з дизельним паливом $LD_{50}=1611$ мг/кг ґрунту; з машинним маслом $LD_{50}=714,28$ мг/кг ґрунту. Рекомендовано такі норми вмісту нафтопродуктів у ґрунті: 2000-3000 — високий; 1000-2000 — середній; <1000 — низький та скоригувати рівні допустимого вмісту. Ключові слова: дощові черви, нафтопродукти, бензин, ґрунт, летальна концентрація, токсичність.

РЕЗЮМЕ. В лабораторных условиях была изучена токсичность нефтепродуктов: бензина, дизельного топлива и машинного масла. Дождевые черви компенсируют влияние низких концентраций бензина путем увеличения трофической активности и массы. Под действием нефтепродуктов наблюдаются морфологические изменения червей: обесцвечивание, ослизнение, мацерация. Получено значения $LD_{50}=2167$ мг/кг почвы для бензина; для дизельного топлива $LD_{50}=1611$ мг/кг почвы; для машинного масла $LD_{50}=714,28$ мг/кг. Рекомендовано установить такие уровни нефтепродуктов в почве: 2000-3000 — высокий; 1000-2000 — средний; <1000 — низкий и скорректировать уровень допустимого содержания. Ключевые слова: дождевые черви, нефтепродукты, бензин, почва, летальная концентрация, токсичность.

SUMMARY. Toxicity of petrol, diesel fuel and motor oil was studied in the laboratory conditions. The earthworms resist to influence of low petrol concentrations through increasing their food activity and weight. Oil products caused morphological changes in worms body: i. g. colour loss, sliming, softening. The levels of lethal dose were obtained: for petrol $LD_{50}=2167$ mg/kg of soil; for diesel fuel $LD_{50}=1611$ mg/kg soil; for motor oil $LD_{50}=714,28$ mg/kg. It was recommended levels of oil products content in soil as follow: 2000-3000 — high; 1000-2000 — medium; <1000 — low and to perform correction of accepted content. Key words: earthworms, oil, petrol, toxicity, soil, lethal concentration, toxicity.

Збільшення видобутку нафти посилює небезпеку забруднення довкілля. Ґрунти під впливом забруднення нафтопродуктами відновлюються набагато гірше, ніж водне і повітряне середовище, оскільки вони здатні акумулювати і закріплювати токсичні речовини [5].

Дуже чутливими до складових нафти є ґрунтові безхребетні [2]. При дослідженні чисельності та біомаси багатовидового угруповання ґрунтових безхребетних було помічено, що найбільше тварин гине у зонах із максимальним нафтовим забрудненням. Крупні безхребетні зникають при цьому повністю. Найбільшу стійкість, навіть деяке підвищення чисельності виявляють дощові черви (*Eisenia nordenskioldi* Eisen і *Limbricus rubellus* Hoff.). При середньому рівні забрудненості *Oligochaeta* також найбільш стійкі, а *Mollusca* — найменш [6]. При слабкому забрудненні нафтою стійкість олігохет становить 111,5 %; при середньому 50 %, при сильному стійкості не виявлено.

Вплив нафтопродуктів на ґрунтову систему багатоплановий, що створює труднощі при виробленні критеріїв їх допустимого вмісту. Через відсутність до цього часу науково обґрунтованих і затверджених державних стандартів на допустимий вміст нафти та її компонентів у

ґрунті (ГДК, ОБРВ) призводить до довільного, часто суб'єктивного нормування. Доцільно нормувати забруднення не за концентрацією речовин, а за реакцією самого ґрунту на токсичний вплив [4].

Дотримання обмеження по лімітах і ГДК для нафтопродуктів є більш економічно вигідним, ніж усунення наслідків забруднення повітря, ґрунту та загибелі організмів, що їх населяють.

Метою дослідження було оцінити токсичний вплив нафтопродуктів на представників ґрунтової мезофауни — дощових червів *Eisenia foetida* у лабораторних умовах, дати рекомендації щодо встановлення орієнтовно безпечних рівнів впливу.

Матеріали і методи

Характеристика діючих речовин досліді

Бензин. Бензин отримують шляхом розгонки і відбору фракцій нафти, що википають у певних температурних межах; до 100° С — бензин I сорту, до 110° С — бензин спеціальний, до 130° С — бензин II сорту, до 265° С — гас ("метеор"), до 270° С — гас звичайний, приблизно до 300° С — проводиться відбір масляних фракцій. Залишок вважається мазутом.

Пари бензину дуже токсичні для людини, а їхнє вдихання може викликати як гостре, так і хронічне отруєння.

Дизпаливо. Дизельне паливо, як і бензин, — це суміш парафінових, нафтових і ароматичних вуглеводів і є продуктом прямої перегонки нафти з додаванням (не більше 20%) компонентів каталітичного крекінгу. Щільність дизельного палива 0,79-0,97 г/см³, температура спалаху 35-80°C.

Дизельне паливо використовується у двигунах, установлених на великовантажних автомобілях, тракторах і дорожніх машинах, на водному і залізничному транспорті, у різних енергетичних установках.

Машинне (моторне) масло. Похідним переробки нафти, що використовують як мастильний матеріал, є мазут, який складає 70-90 % її маси. Поряд із звичайним мінеральним маслом, продуктом прямої переробки нафти, існує масло синтетичне, отримане в результаті складних реакцій синтезу. Основною характеристикою машинного масла є в'язкість, яка відрізняється у зимових та літніх сортів. Щорічно в світі споживають близько 50 млн. тонн моторних масел. Лише 25 % із них (у Росії 4 %) підлягають утилізації або спалюванню. Решта опиняється у водоймах, ґрунті, ка-

налізації, розпилюється в атмосфері.

Тест-об'єкт та умови досліджу

У досліді з біотестування нафтопродуктів у якості тест-об'єкту використовували дощових черв'яків виду *Eisenia foetida* (Savigny, 1826). Тестуванню підлягали бензин, дизельне паливо і машинне масло (моторна олива). Кожну речовину випробовували у 3 концентраціях: 1000 мг/кг, 2000 мг/кг, 3000 мг/кг. Це відповідає низькому, середньому і високому рівням забруднення ґрунту, оскільки ГДК для вмісту нафтопродуктів у ґрунті досі не встановлені.

Рівень забруднення ґрунту нафтопродуктами (згідно з прийнятими нормативами [3]):

- <1000 мг/кг — допустимий рівень;
- 1000-2000 мг/кг — низький рівень;
- 2000-3000 мг/кг — середній рівень;
- 3000-5000 мг/кг — високий рівень.

Штучний ґрунт змішували у співвідношенні: 70% — пісок, 20% — торф, 10% — чорнозем. Готували емульсію досліджуваних речовин у дистильованій воді, перемішували із сухим штучним ґрунтом. Перед початком досліді дощових черв'яків промивали, висушували і зважували у кількості по 10 штук на кожну

Таблиця 1

Динаміка зміни температури протягом досліді (бензин)

		Дати вимірювань температури та її значення			
		29.09.2011	30.09.2011	01.10.2011	02.10.2011
		t, °C	t, °C	t, °C	t, °C
Низький рівень забруднення ґрунту, 1000 мг/кг	№1	21,5	21,2	19,9	21,1
	№2	21,5	21,1	19,7	21,1
	№3	21,8	21	19,8	21,2
	№4	21,7	20,9	19,6	21,1
	№5	,1	20,9	19,6	21,1
	Середнє	64	21,02	19,72	21,12
Середній рівень забруднення ґрунту, 2000 мг/кг	№6	21,6	20,9	19,6	21,2
	№7	21,5	20,8	19,6	21,1
	№8	21,5	20,7	19,6	21
	№9	21,3	20,6	19,6	21
	№10	21,4	20,6	19,9	21,2
	Середнє	21,46	20,72	19,66	21,1
Високий рівень забруднення ґрунту, 3000 мг/кг	№11	Вимірювання не проводилось — 100% смертність			
	№12				
	№13				
	№14				
	№15				
	Середнє				
Контроль	№16	21,5	20,7	19,8	21,2
	№17	21,3	20,7	19,7	21,1
	№18	21,4	20,6	19,7	21,2
	№19	21,4	20,6	19,7	21,4
	№20	21	20,3	19,8	21,3
	Середнє	21,32	20,58	19,74	21,24

Динаміка зміни температури протягом дослідів (дизпаливо)

		Дати вимірювань температури та її значення					
		13.10.2011	14.10.2011	15.10.2011	16.10.2011	17.10.2011	18.10.2011
№ п/п		t, °C	t, °C	t, °C	t, °C	t, °C	t, °C
Низький рівень забруднення ґрунту, 1000 мг/кг	№1	18,6	17,5	17,3	19,8	19,6	22,3
	№2	18,4	17,2	17,1	19,7	19,7	22
	№3	18,4	17,1	17	19,6	19,7	21,9
	№4	18,2	17	17,1	19,7	19,6	21,8
	№5	18,5	17,1	17	19,6	19,5	21,8
Середній рівень забруднення ґрунту, 2000 мг/кг	№6	18,2	17,6	17,8	19,7	19,8	21,9
	№7	18,1	17,4	17,2	19,8	19,8	21,8
	№8	18,2	17,3	17,2	19,8	19,7	21,7
	№9	18,3	17,1	17,1	20	19,8	21,7
Високий рівень забруднення ґрунту, 3000 мг/кг	№10	18,2	17,3	17,3	19,9	20	21,6
	№11	18,2	17,6	17,4	20	19,9	21,8
	№12	18,1	17,4	17,4	19,8	19,97	21,8
	№13	18,3	17,4	17,3	20	19,8	21,7
	№14	18,4	17,5	17,3	19,9	20	21,7
Контроль	№15	18,1	17,5	17,5	20,1	20,1	21,7
	№16	18,1	17,4	17,7	20,1	19,9	21,8
	№17	18,1	17,2	17,4	20	19,8	21,7
	№18	18,3	17,3	17,5	19,9	19,8	21,6
	№19	18	17,2	17,4	20	19,6	21,6
	№20	17,9	17,9	17,8	20	20	21,5

пластикову коробку (контейнер) об'ємом 500 мл. Черв'як рівномірно розподіляли по 5 точках у субстраті. Режим освітлення 12 год/добу (світло/темрява). Акліматизація черв'яків тривала 2 доби, у цей період їх не годували. Для контролю використовували ґрунт, необроблений нафтопродуктом, зволожений водою. Маса ґрунту в кожному пластиковому контейнері становила 400 г. Контейнер накривали кришкою з дірочками для провітрювання.

Кількість тварин, що загинули, визначали візуально, реєструючи на 7 і 14 добу дослідів. Оцінювали загальний стан і рухливість черв'яків, живих зважували, фіксуючи середню масу для кожного контейнера. Температуру і вологість реєстрували через день.

Дослід з бензином був поставлений при температурі 24° С та відносній вологості 33%; з мазутом — 18° С та 55%, із машинним маслом — 18° С та 35%. (табл. 1-3).

Результати та їх обговорення

Вживання (смертність) дощових черв'яків

Дослід з бензином

При високій концентрації бензину (3000 мг/кг) смертність черв'яків становила 100 %, при середній концентрації (2000 мг/кг) через тиж-

день загинуло 34 %, а через два тижні — 40 % тварин. При низькому вмісті бензину (1000 мг/кг) у штучному ґрунті смертність черв'яків становила лише 2 %, а у контролі 4 %. Згідно з результатами експериментів черв'яки є толерантними до вмісту бензину у низькій концентрації.

Дослід із дизельним паливом

При низькій концентрації дизельного палива у досліді смертність складала 1 і 6 % на момент обліку тварин. Смертність черв'яків при середніх концентраціях через тиждень становили 68 %, через два — 78 %; а при високих — 78 % і 100 %.

У досліді з машинним маслом 50 % піддослідних тварин загинула за 1 тиждень і 70 % за 2 тижні у досліді з низькою концентрацією. При середній концентрації через тиждень загинуло 62 % тварин, а через 2 тижні — 74 %. Висока концентрація машинного масла спричинила загибель 80% тварин за тиждень і 94 % за два тижні. Порівняно із дизельним паливом смертність нижча у середніх та високих концентраціях (табл. 4).

Для усіх досліджених нафтопродуктів на основі отриманих у процесі експерименту ре-

зультатів було розраховано LD₅₀ за формулою [1]:

$$LD_{50} = \frac{(\alpha - \beta)(50 - B)}{A - B} \beta, \text{ де:}$$

A — смертність вище 50,0 %, B — смертність нижче 50,0 %, α — доза, яка викликає смертність типу A; β — доза, яка викликає смертність типу B.

Таблиця 3

Динаміка зміни температури протягом досліду (машинне масло)

		Дати вимірювань температури та її значення	
		13.10.2011	
		№ п/п	t, °C
Низький рівень забруднення ґрунту, 1000 мг/кг	№1	18,6	
	№2	18,4	
	№3	18,4	
	№4	18,2	
	№5	18,5	
Середній рівень забруднення ґрунту, 2000 мг/кг	№6	18,2	
	№7	18,1	
	№8	18,2	
	№9	18,3	
	№10	18,2	
Високий рівень забруднення ґрунту, 3000 мг/кг	№11	18,2	
	№12	18,1	
	№13	18,3	
	№14	18,4	
	№15	18,1	
Контроль	№16	18,1	
	№17	18,1	
	№18	18,3	
	№19	18	
	№20	17,9	

У досліді з бензином для дощових черв'яків встановлено LD₅₀=2167 мг/кг ґрунту; з дизельним паливом LD₅₀=1611 мг/кг ґрунту; з машинним маслом LD₅₀=714,28 мг/кг ґрунту

У експериментах із нафтопродуктами маса черв'яків не залишалася постійною. Збільшення маси пов'язано із трофічною активністю безхребетних, які пропускають через кишечник

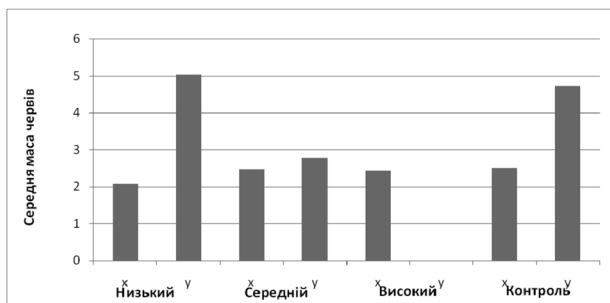


Рис. 1. Зміна середньої маси черв'яків на початку (А) та в кінці (В) досліду (бензин)

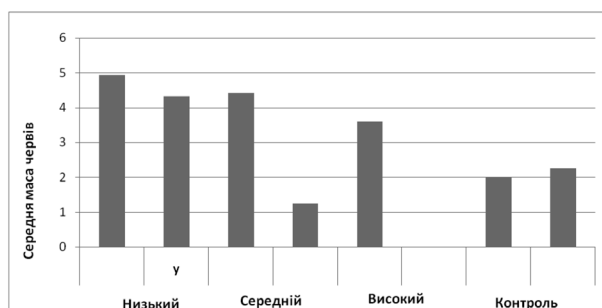


Рис. 2. Зміна середньої маси черв'яків на початку (А) та в кінці (В) досліду (дизельне паливо)

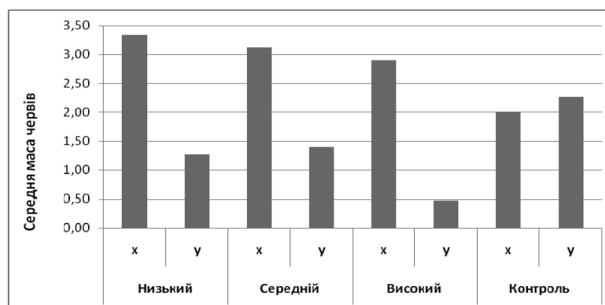


Рис. 3. Зміна середньої маси черв'яків на початку (А) та в кінці (В) досліду (машинне масло)

Таблиця 4

Смертність дощових черв'яків у досліді із нафтопродуктами (бензин та дизельне паливо)

	Бензин		Дизельне паливо		Машинне масло	
	7 день	14 день	7 день	14 день	7 день	14 день
Низька	2%	2%	1%	6%	50%	70%
Середня	34%	40%	68%	78%	62%	74%
Висока	100%	100%	78%	100%	80%	94%
Контроль	4%	4%	0%	8%	0%	8%

Маса черв'я у досліді із нафтопродуктами

Термін впливу	Низький		Середній		Високий		Контроль	
	1 день	14 день	1 день	14 день	1 день	14 день	1 день	14 день
Бензин	2,06	5,03 [^]	2,46* ^{\$}	2,78	2,43 [^]	-	2,50	4,72
$\Delta m, \%$	143,7 %		12,7 %		-100 %		88,94 %	
Дизельне паливо	4,93	4,31	4,42	1,24	3,60	0	1,99	2,26
$\Delta m, \%$	-12,6 %		-71,9 %		-100 %		13,13 %	
Машинне масло	3,32	1,26	3,11	1,39	2,89	0,48	1,99	2,26
$\Delta m, \%$	-62,2 %		-55,46 %		-83,4 %		13,13 %	

$\Delta m, \%$ — зміна маси черв'я за час досліді

* маса достовірно відрізняється до і після досліді

^{\$} достовірно відрізняється від контролю, $\alpha=5\%$

субстрат (штучний ґрунт). Перед початком досліді кишечник черв'я був порожнім. Втрати маси піддослідних тварин пов'язана частково із фізіологічними змінами, а загальне зменшення маси є наслідком загибелі черв'я (табл. 5).

За низької концентрації бензину загальна маса черв'я у досліді збільшилася від 2,06 до 5,03 (143 %), у контролі також приріст маси тварин становив 88,94 %. При середньому рівні забруднення маса зросла на 12,74 %, а при високому токсична дія бензину викликала смерть усіх піддослідних особин. Приріст маси (збільшення трофічної активності) узгоджується з даними літератури, адже у польових умовах черви стійкі до низьких рівнів забруднення ґрунту нафтопродуктами.

У досліді з дизельним паливом маса черв'я протягом експерименту знижувалася, окрім контролю. Зміна маси черв'я при низькій концентрації становила — 12,6 % (смертність 6 %), тобто частина черв'я загинула, а у живих знизилася трофічна активність; при середній концентрації дизельного палива — 71 % (смертність 78 %), тобто знизилася маса через загибель тварин; при високій — загинули всі тварини (100 %). У контролі приріст маси черв'я становив 13 %. У даному випадку компенсаторних механізмів до токсичного впливу дизельного палива не виявлено.

Під впливом машинного масла також спостерігали зниження маси черв'я, зокрема: при низькій концентрації — 62,2 %; при середній концентрації — 55,46%, при високій концентрації — 83,4 %. При порівнянні одержаних результатів за допомогою непараметричного критерію Ван-дер-Вардена виявлено достовірність відмінностей маси під впливом різних концентрацій бензину. Не виявлено доведених закономірностей більш-менш токсич-

ного впливу машинного масла порівняно з дизельним паливом та бензином.

За дії низьких концентрацій бензину черви активно споживали субстрат, в результаті чого загальна маса піддослідних тварин збільшувалася. При впливі більш токсичних речовин у високих концентраціях трофічна активність припиняється. Це поряд із морфологічними змінами виявляється як один із проявів токсичності.

Морфологічні зміни

При проведенні експерименту із різними нафтопродуктами спостерігали, що деякі мертві особини мали білий колір, у результаті руйнування молекул гемоглобіну (знекровлення), а також були ослизнені та напіврозкладені. Також виявлені малорухливі, м'які, знебарвлені особини (рис.4).

Обговорення результатів

Токсичність досліджених нафтопродуктів: бензину, дизельного палива, машинного масла проявлялася по-різному. Можна розмістити у ряд за зростанням токсичності: бензин, дизельне паливо, машинне масло. Про це свідчать підраховані значення напівлетальних доз. LD₅₀ машинного масла (714,28 мг/кг) у 2,25 рази нижче, ніж дизельного палива (1611 мг/кг), у 3 рази нижче, ніж бензину, а дизельного палива у 1,34 рази нижче, ніж бензину (2167 мг/кг). Таким чином, машинне масло втричі токсичніше за бензин, вдвічі більш токсичне за дизельне паливо; а дизельне паливо приблизно у півтора рази токсичніше за бензин.

У проявах токсичності виявлено деякі особливості. Незважаючи на більш високу токсичність, дія машинного масла у середніх та низьких концентраціях (1000-2000 мг/кг) проявляється менше, ніж дизельного палива у зв'язку з його фізичними властивостями.



Рис. 4. Морфологічні зміни дощових черв'яків, що відбулися під впливом нафтопродуктів

Особливості токсичності частково обумовлені характеристиками речовин: бензин найбільш леткий, його дія найшвидше проявляється. Дизельне паливо діє у більш високих концентраціях. Машинне масло найбільш токсичне, але його вплив можливий лише при безпосередньому контакті із тілом тварини через високу в'язкість, менше випаровування.

У дощових черв'яків існують механізми компенсації токсичного впливу нафтопродуктів. Частково це може бути пов'язано із збільшенням трофічної активності при низьких дозах нафтопродуктів (бензину). Черви набирають незначну масу при впливах невисоких концентрацій нафтопродуктів, а при перевищенні рівня допустимої концентрації — гинуть.

Висновки. Із досліджених нафтопродуктів найбільш токсичним є машинне масло, дія якого проявляється при безпосередньому контакті, менш токсичними — дизельне паливо та бензин. Тому забруднення нафтопродуктами ґрунту знижує трофічну активність і діяльність черв'яків як деструкторів.

Рекомендовано встановити нижній рівень ГДК для високого рівня забруднення менше 3000 мг/кг, оскільки ця концентрація викликає 100 % смертність. Слід знизити рівні концентрації нафтопродуктів у ґрунтах для високого та середнього рівня і встановити такі значення: 2000-3000 високий; 1000-2000 середній; <1000 низький і скоригувати допустимий вміст нафтопродуктів у ґрунті.

ЛІТЕРАТУРА

1. ДСТУ ISO 11268-1:2003 Національний стандарт України. Якість ґрунту. Вплив забрудників на земляних черв'яків (*Eisenia fetida*). Частина 1. Визначення гострої токсичності з використанням штучного субстрату ґрунту. — Чинний від 01.07.2004. — Київ: Держспоживстандарт України, 2004. — 7 с.
2. Карташев А. Г. Биоиндикация экологического состояния окружающей среды / А. Г. Карташев. — Томск: Водолей, 1999. — 180 с.
3. Порядок определения размеров ущерба от загрязнения земель химическими веществами (утв. Роскомземом 10 ноября 1993 г. и Минприроды РФ 18 ноября 1993 г.). — Электронный ресурс. — Режим доступа: <http://forum.integral.ru/viewtopic.php?f=14&t=1859>. — Название с экрана.
4. Проблема диагностики и нормирования загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами / Ю.И. Пиковский, А.Н. Геннадиев, С.С. Чернявский, Г.Н. Сахаров // Почвоведение, 2003, №9. — С. 1132—1140.
5. Солнцева Н.П. Принципы и методы экспериментального моделирования миграции и закрепления нефти и нефтепродуктов в почвах. Геохимия ландшафтов и география почв / Н.П. Солнцева // Ойкумена, 2002. — С. 65—90.
6. Соромотин А.В. Влияние нефтяного загрязнения на почвенных беспозвоночных (мезофауны) в таежных лесах Среднего Приобья / А.В. Соромотин // Сибирский экологический журнал. — 1995. — №6. — С. 549—552.

Надійшла до редакції 30.03.2012р.