

Шифр «Нафтопродукти»

Шляхи підвищення техногенної безпеки об'єктів довкілля, забруднених  
нафтопродуктами

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	3
РОЗДІЛ 1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД .....	5
1.1 Джерела забруднення компонентів природного середовища нафтою .....	5
1.2 Вплив нафтопродуктів на об'єкти довкілля.....	6
1.3 Вплив нафтопродуктів на живі організми .....	7
1.4 Вплив нафтових вуглеводнів на організм людини .....	8
1.5 Допустимий вміст нафти в ґрунті.....	9
РОЗДІЛ 2 МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ НАФТОПРОДУКТІВ	10
2.1 Особливості застосування методу біотестування для оцінки токсичності об'єктів.....	10
2.2 Метод визначення фітотоксичності ґрунту .....	11
2.3 Метод визначення токсичності ґрунту з використанням дощових черв'яків .....	12
2.4 Метод токсичного випробування водних витяжок ґрунтів .....	14
РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ФІТОТОКСИЧНОГО ЕФЕКТУ НАФТИ.....	16
ВИСНОВКИ .....	23
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	24
ДОДАТКИ .....	27
ДОДАТОК А .....	27

## ВСТУП

Протягом всього життєвого циклу будь-яка сировина здійснює вплив на навколишнє середовище. У випадку з нафтою і нафтопродуктами, вони проявляють токсичну та канцерогенну дію на живі організми. Так як у природі всі речовини рано чи пізно включаються в природний колообіг, небезпечні ксенобіотики призводять до погіршення якості умов проживання, а як наслідок – до зростання захворюваності та смертності.

З однієї сторони, нафта являється цінною сировиною для нафтопереробної та нафтохімічної галузей виробництва, а з іншої – виступає в якості серйозного поллютанта при надходженні до об'єктів навколишнього середовища. Забруднення довкілля нафтою та нафтопродуктами призводить до порушення екологічної рівноваги та природного балансу екосистем, зміни еколого-трофічних груп біоценозів, токсичного впливу на всі живі організми, у тому числі негативного ефекту зазнає і людина. Найбільш суттєвою та визначальною причиною техногенного навантаження на природне середовище є аварійні розливи нафти під час її видобування та транспортування, чисельність яких кожного року зростає у силу різних причин. При цьому змінюються як фізико-хімічні параметри ґрунтів, підземних і поверхневих вод, так і чітко прослідковуються фізіологічні зміни в мікро-, міко- та фітоценозах, що проявляються, залежно від концентрації нафтопродуктів, від інгібування ферментативної активності до летальних наслідків.

У зв'язку з цим все більш актуальними постають питання підвищення техногенної безпеки об'єктів, забруднених нафтопродуктами, та мінімізації техногенного навантаження на компоненти природного середовища. Для визначення гранично допустимого екологічного навантаження на довкілля внаслідок ситуацій, що супроводжуються надходженням нафти та нафтопродуктів, досить ефективним є застосування фітотоксичного випробування. За результатами методу біотестування можна стверджувати про ступінь токсичності тієї чи іншої дози нафти для конкретного живого

організму, враховуючи його межі екологічної валентності. Такий підхід дозволяє надати практичні рекомендації до підбору рослинних угруповань під час проведення фітореMediaції та біологічного етапу рекультивації нафтозабруднених ґрунтів.

**Мета роботи** полягає у встановленні рівня фітотоксичного ефекту для різних видів рослин від впливу нафти та нафтопродуктів при їх надходженні до ґрунту у результаті виробничої діяльності людини.

Для досягнення зазначеної мети поставлені такі **завдання дослідження**:

- проаналізувати особливості впливу нафтопродуктів на процес розвитку рослин;
- виявити та дослідити фітотоксичний ефект нафтопродуктів на різні види рослин;
- проаналізувати та оцінити результати фітотоксичного випробування, визначити види рослин, найбільш стійкі до зростання на забруднених нафтою ґрунтах;
- надати практичні рекомендації з підвищення техногенної безпеки нафтозабруднених об'єктів довкілля.

**Об'єкт дослідження** – забруднені нафтою та нафтопродуктами компоненти природного середовища.

**Предмет дослідження** – підвищення техногенної безпеки забруднених нафтою об'єктів на основі визначення фітотоксичного ефекту.

**Методи дослідження**: аналітичні, біотестування, біоіндикація, системний аналіз.

**Наукова новизна** отриманих результатів полягає у встановленні закономірностей фітотоксичного ефекту на різні види рослин залежно від концентрації нафти у ґрунті.

**Практична цінність** роботи полягає у розробленні рекомендацій щодо формування консорціуму рослин, найбільш толерантних до дії нафти, та застосуванні його під час фітореMediaції та біологічного етапу рекультивації.

## РОЗДІЛ 1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

### 1.1 Джерела забруднення компонентів природного середовища нафтою

Основними причинами забруднення води нафтою є [1]:

1. Техногенні катастрофи. Техногенні екологічні катастрофи, викликані розливами нафти при аваріях на танкерах, є найбільш поширеними. За даними міжнародної організації ІМСО, загальна кількість нафти і нафтопродуктів, які щорічно потрапляють у води Світового океану, вже зараз досягає 10 млн. т. Причому ця небезпека зростає із збільшенням тоннажу танкерів і їх кількості. За підрахунками фахівців, загальна ймовірність аварії дорівнює 0,4 на 1000 рейсів. Ймовірність ризику розливу приймається рівною 0,05 на 1000 рейсів у відкритому морі і 0,25 в небезпечних місцях. З урахуванням можливої частоти аварії з посадкою на міліну і зіткненням – середній розмір нафтового розливу може бути оцінений як 1/48 від кількості перевезеної за рейс нафти.

2. Промислово-побутова діяльність людини. Великі маси нафти з суші надходять у моря по ріках, з побутовими й зливними стоками. Обсяг забруднення нафтою з цього джерела перевищує 2 млн. т нафти на рік. Зі стоками промисловості і нафтопереробних заводів у море щорічно потрапляє до 0,5 млн. т нафти.

3. Природний розлив нафтопродуктів. У протоці Санта-Барбара у Каліфорнії вже багато століть у море просочується з тріщин і ущелин у морському дні щорічно 3000 т нафти, проте забруднення біля берегів не спостерігається [2].

Джерелами забруднення повітря вуглеводнями є всі лакофарбові, газо- і нафтохімічні, вуглехімічні, багато біохімічних і плазмохімічних виробництв, силові установки і автомобільний транспорт, що працюють на основі вуглеводневих енергоносіїв [3].

## 1.2 Вплив нафтопродуктів на об'єкти довкілля

Нафта і нафтопродукти діють на водну фауну в декількох напрямках:

- поверхнева плівка нафти затримує дифузію газів з атмосфери у воду і порушує газовий обмін водоймища, створюючи дефіцит кисню;
- маслянисті речовини, покриваючи поверхню зябер тонкою плівкою, порушують газообмін і приводять до асфіксії риб;
- водорозчинні з'єднання легко проникають в організм риб;
- при концентрації нафти 0,1 мг/л м'ясо риб набуває неусувного “нафтового” запаху і присмаку;
- донні відкладення нафти підривають кормову базу водоймищ і поглинають кисень з води [4].

За проникнення нафти в гумусовий горизонт відбувається склеювання ґрунтової маси. У результаті закупорювання капілярів ґрунту нафтою порушується аерація та окислювально-відновлювальний потенціал, створюються анаеробні умови. Як наслідок, ґрунт втрачає свою родючість, стає гідрофобним, підвищується ерозія, вивітрювання тощо [5].

У науковій літературі наводяться результати одиничних експериментів, спрямованих на визначення залежності характеру і сили впливу нафтового забруднення на фізичні, хімічні властивості і динаміку біохімічних процесів ґрунту від заданих факторів. Критичним для агрофізичних параметрів ґрунту є концентрація нафтового забруднення вже на рівні 15%, що проявляється в заповненні порового простору, склеюванні ґрунтових агрегатів, а відповідно – зміні механічної структури і порушення водно-повітряного режиму ґрунту. Вченим З.С. Єжелевим доведено вплив вуглеводнів нафти на водно-фізичні властивості ґрунту, що проявилось в зниженні коефіцієнта фільтрації, зменшення питомої поверхні твердої фази, зниженні сорбційної здатності і капілярної вологоємності, звуженні діапазону продуктивної вологи [6, 7].

### 1.3 Вплив нафтопродуктів на живі організми

Токсична дія нафти і нафтопродуктів на зоопланктон відмічається при концентрації 0,001 мг/дм<sup>3</sup>. При концентрації нафтопродуктів на рівні 0,1 мг/дм<sup>3</sup> зоопланктон гине.

Для водних організмів нафта і нафтопродукти є високотоксичними речовинами і відносяться до групи нервово-паралітичних отрут.

Вуглеводні нафти є в основному згубними на ранніх стадіях розвитку гідробіонтів і не приводять до швидкого і масового вимирання дорослих організмів. Для ікри, молоді риб і ракоподібних згубною виявляється концентрація нафти всього лише в 0,1 – 0,01 мг/дм<sup>3</sup>, тоді як на дорослі організми така концентрація не дає токсичну дію.

Наркотичний ефект, що викликається у гідробіонтів нафтою і нафтопродуктами, пов'язаний з розчинною складовою, а необоротна токсична дія – з важкими фракціями, які викликають порушення газового і водного обмінів, процесів фільтрації, ушкоджують зовнішні оболонки, проникають всередину організму, викликаючи пошкодження хромосом.

Особливістю вуглеводнів нафти є їх здатність вільно переходити з травного тракту до кров'яного руслу і упродовжуватися в жирову тканину, що створює небезпеку транспорту вуглеводнів нафти в загальних трофічних зв'язках гідробіоценозів і проникнення цих речовин в організм людини.

Гранично допустима концентрація нафтопродуктів (у розчиненому і емульгованому стані) для води водних об'єктів господарсько-питного і культурно-побутового використання дорівнює 0,3 мг/дм<sup>3</sup>, для рибогосподарських водних об'єктів – 0,05 мг/дм<sup>3</sup> [3, 8].

За результатами біотестування на дафніях проб нафтозабруднених дерново-підзолистих ґрунтів встановлено, що дози внесення нафти 0,7 і 1,4 л/м<sup>2</sup> не чинили гострого токсичного впливу на дафній навіть при свіжому тритижневому розливі. Достовірна загибель дафній щодо контролю склала 21 % і 42 % особин відповідно. Ґрунтові зразки з дозою нафти 4 л/м<sup>2</sup> володіли

гострою токсичністю до початку другого вегетаційного сезону – загибель дафній перевищувала 50 % [9].

Збільшення кількості вуглеводнів в ґрунті призводить до зменшення видового біорізноманіття та скорочення чисельності організмів, більш чутливих і менш стійких до токсичної дії надходять органічних сполук. Встановлено, що навіть мінімальна концентрація нафти в ґрунті сприяє пригніченню процесів енергетичного і пластичного обміну нітрифікаторів. Флуктуації кількості цієї групи мікроорганізмів ідентифікуються як тест-реакції у методиках біоіндикації нафтового забруднення. У той же час відбувається зростання популяцій бактерій, які спеціалізуються на деструкції нафти, що здійснюється за допомогою синтезованих ендферменти. Аналіз результатів проведених досліджень, висвітлених у роботах [10, 11] вказує на стимулювання зростання азотфіксаторів при надходженні нафти і нафтопродуктів в ґрунт, що сприяє застосуванню таких штамів як *Azotobacter chroococcum* і ін. для очищення забрудненого середовища.

#### 1.4 Вплив нафтових вуглеводнів на організм людини

Всі вуглеводні впливають на серцево-судинну систему і на показники крові (зниження вмісту гемоглобіну і еритроцитів), також можливо ураження печінки, порушення діяльності ендокринних залоз. Особливості дії пари нафти і її продуктів пов'язані з її складом. Нафта, бідна ароматичними вуглеводнями, за своїм ефектом наближається до бензинових фракцій. Значний вплив має рідка нафта на шкіру, викликаючи дерматити і екзему.

При попаданні пари автомобільного бензину через дихальні шляхи або в результаті всмоктування в кров з шлунково-кишкового тракту, відбувається часткове розчинення жирів і ліпідів організму. Бензин не тільки вражає центральну нервову систему, але й може викликати гострі і хронічні отруєння, іноді із смертельним результатом. Всі види бензину володіють вираженою дією на серцево-судинну систему. Подразнення рецепторів викликає збудження в



корі головного мозку, яке залучає до процесу придушення органи зору і слуху. При гострому отруєнні бензином стан нагадує алкогольне сп'яніння, що настає при концентрації пари бензину в повітрі 0,005-0,01 мг/м<sup>3</sup>. При концентрації 0,5 мг/м<sup>3</sup> смерть настає майже миттєво. У результаті частих повторних отруєнь бензином розвиваються нервові розлади, хоча при багатократних діях невеликих кількостей може виникнути звикання (зниження чутливості) [3].

### 1.5 Допустимий вміст нафти в ґрунті

В Україні ГДК нафти і продуктів її переробки в ґрунті не визначена. Згідно санітарних норм та правил вміст нафтопродуктів у ґрунті не нормується. Існує лише посилання на орієнтовно допустиму концентрацію (ОДК) 0,2 г/кг у "Методиці визначення збитку, обумовленого забрудненням і засміченням земельних ресурсів у результаті порушення природоохоронного законодавства".

У РД 41-5804046-200-91 "Охорона навколишнього середовища при будівництві розвідувальних і експлуатаційних свердловин на нафту і газ" визначена ОДК для ґрунту – 4 г/кг, який широко використовується для аналізу забрудненості ґрунтів нафтопродуктами. Цей показник дещо завищений, й орієнтування на нього не може гарантувати отримання об'єктивних оцінок, особливо зважаючи на те, що кларк вмісту нафтових вуглеводнів у ґрунті в європейських країнах коливається у межах 0,01–0,5 г/кг, а у великих містах України досить звичні показники 1–3 г/кг. На територіях, прилеглих до підприємств переробки, видобування та зберігання нафтопродуктів, фон досягає 6 г/кг [3].

## РОЗДІЛ 2 МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ НАФТОПРОДУКТІВ

2.1 Особливості застосування методу біотестування для оцінки токсичності об'єктів

Біотестуванням називається окремий випадок біоіндикації, коли у вільно живучих організмів, що знаходяться у стандартизованих умовах, досліджуються ушкодження або відхилення від норми, викликані впливом несприятливих факторів (токсичних речовин).

Тест-функції, що використовують як показники біотестування для різних об'єктів:

- для інфузорій, ракоподібних, ембріональних стадій молюсків, риб, комах – виживаність (смертність) тест-організмів;

- для ракоподібних, риб, молюсків – плідність, поява аномальних відхилень у ранньому ембріональному розвитку організму, ступінь синхронності дроблення яйцеклітин;

- для культур одноклітинних водоростей й інфузорій – загибель клітин, зміна (приріст або збиток) чисельності клітин у культурі, коефіцієнт ділення клітин, середня швидкість росту, добовий приріст культури;

- для рослин – енергія проростання насіння, довжина первинного кореня й ін.

Використання біотестування висуває ряд вимог, дотримання яких необхідне для отримання достовірних результатів. Серед останніх можна назвати наступні: відносна швидкість проведення досліджень, отримання достатньо точних і відтворюваних результатів, присутність об'єктів, застосовуваних у біотестуванні у великій кількості і з однорідними властивостями, а також діапазон погрішності у порівнянні з іншими методами тестування не більше 20% [12, 13].

## 2.2 Метод визначення фітотоксичності ґрунту

Для виявлення токсичності ґрунту і води широко використовуються фітотести, в яких рослини здатні адекватно реагувати на екзогенний хімічний вплив шляхом зниження схожості насіння, інтенсивності проростання коренів і пагонів, отже, виступати в ролі індикаторів токсичності [14, 15].

Фітотестування засноване на чутливості рослин до екзогенної дії хімічних речовин, що відображається на ростових та морфологічних характеристиках. Основними вимогами до цього методу є: експресність, доступність і простота експериментів, відтворюваність і достовірність отриманих результатів, економічність, об'єктивність [9]. Особливої актуальності в екологічному контролі набувають лабораторні методи фітотестування, як найбільш експресні та економічні. Існують публікації, які вказують також на найбільшу чутливість саме лабораторних методів тестування в порівнянні з мікроділянковими і вегетаційними [16].

Оцінку токсичності ґрунту, забрудненого досліджуваними поллютантами, проводили в фітотесті на тридобових проростках скоростиглого редису сорту «Зоря», який характеризується високою всхожістю. 20 г випробуваного зразка ґрунту поміщали в скляні чашки Петрі, зволожували 5-ма мл дистильованої води, на поверхню ґрунту в кожену чашку поміщали 20 попередньо відкаліброваних насінин тест-рослини. Через 3 доби інкубації в термостаті при 28°C визначали всхожість насіння у відсотках, враховуючи число пророслих насінин редиски, вимірювали в міліметрах середню довжину пагона і середню довжину кореня у проростків редису [17].

Середня довжина пагона і середня довжина кореня – це відношення сумарної довжини пагонів або коріння до числа пророслих насіння. Схожість насіння розраховували за формулою:

$$\text{Всхожість} = \frac{\text{Число насінин, що проросли}}{\text{Загальне число насінин}} \times 100\% \quad (2.1)$$

У якості контролю використовували чистий ґрунт, що не піддавалася хімічній дії. Для кожного варіанта визначення проводилося в трьох повтореннях. Визначали різницю (у %) вивчених показників між забрудненим і контрольним чистим ґрунтом. Різницю показників до 10 % в порівнянні з контролем не приймали до уваги і ґрунт вважали екологічно чистим, різниця в 10–30 % вказувала на слабку токсичність ґрунту, від 30 % до 50 % – на середній ступінь, а вище 50 % – на високий ступінь фітотоксичності ґрунту .

За результатами дослідів вчених визначено, що схожість насіння редису посівного та крес-салату за дії як нафтозабрудненого ґрунту, так і субстратів породних відвалів суттєво не відрізнялася від контрольних зразків, тоді як істотне зменшення схожості насіння цибулі ріпчастої спостерігали за дії практично всіх зразків. За впливу чорної породи цей показник становив 35%, червоної породи – 50% та 5% нафти – 55%, за дії 8% нафти насіння досліджуваного тест-об'єкта не проростало (рис.2). Отже, концентрація нафти 8% у ґрунті є летальною дозою для проростання насіння *A. Сера* [18].

### 2.3 Метод визначення токсичності ґрунту з використанням дощових черв'яків

Оцінку токсичності ґрунту на дощових черв'яках проводили за методом, заснованим на дослідженні їх виживання при впливі токсичних речовин [19]. Як тест-організмів використовували дощових компостних черв'яків «Старатель», отриманих в лабораторних умовах шляхом схрещування особин двох просторово віддалених популяцій (місцевої російської і киргизької популяції) гнойових черв'яків *Eisenia foetida* (Патент РФ №2058737). Перевага їх використання, на думку вчених, полягала в застосуванні особин генетично однорідної популяції, що підвищувало достовірність результатів тестування [20].

Експериментальні пластикові контейнери заповнювали забрудненим або чистим (контрольним) ґрунтом (1 кг) і поміщали по 20 особин. Кожен варіант експерименту був представлений в трьох повтореннях. Для створення оптимальних умов для черв'яків «Старатель» в ході біотестування ґрунт зволожували профільтрованою водопровідною водою, підтримуючи вологість в ході експерименту на рівні не менше 60%, додатково вносили біогумус (червокомпост) в співвідношенні до ґрунту 1:6. Інкубування дощових черв'яків здійснювали при кімнатній температурі. Контейнери зверху щільно фіксували марлею, яка містила невеликі отвори для повітрообміну, і, в той же час, перешкоджала висиханню ґрунту і випадковому вивільненню з контейнерів тест-організмів.

Показником виживання служила середня кількість черв'яків, які вижили в тестованому ґрунті, в порівнянні з контролем (незабруднений ґрунт) (рис. 2.1). Критерієм високої токсичності була загибель 50 % і більше дощових черв'яків в тестованому ґрунті в порівнянні з контролем. Проводили короткочасне біотестування протягом 2 діб, що дозволило виявити гостру токсичну дію забруднювачів ґрунту на дощових черв'яків. В ході більш тривалого біотестування (7 діб експозиції) оцінювали субхронічну дію екополютантів на дощових черв'яків. Додатково вивчали зміну поведінкових реакцій у тест-організмів [20].



а



б

Рисунок 2.1 – Оцінка токсичності ґрунту на дощових черв'яках:  
а – візуалізація поведінкових реакцій на початкових етапах експерименту;  
б – облік результатів через 7 діб експозиції

## 2.4 Метод токсичного випробування водних витяжок ґрунтів

В даний час для визначення токсичності ґрунтів методами біотестування використовуються показники токсичності водних витяжок з ґрунтів, що визначаються на організмах-гідробіонтах [21]. Найбільш придатним для біотестування водних витяжок з ґрунтів є рак *Daphnia magna Straus*. Цей представник планктону є універсальним і досить чутливим до забруднення тест-об'єктом [22]. Відбір проб ґрунтів та приготування кислотних витяжок проводилися за стандартними методиками (Методы определения микроэлементов в почвах, растениях и водах, 1974; Методические рекомендации по проведению полевых и лабораторных исследований почв и растений при контроле загрязнению окружающей среды металлами, 1981). Водні витяжки ґрунтів готувалися за методикою, описаною Кабіровим у співавт. (1997). Вміст елементів (Cu, Pb, Cd, Zn, Cr) в ґрунті і водній витяжці ґрунтів визначали в науково-освітньому центрі «Технології живих систем» Ставропольського державного університету відповідно до «Методичних вказівок по визначенню важких металів в ґрунтах сільгоспугідь і продукції рослинництва» (1992) і «Методичних вказівок по визначенню важких металів в кормах і рослинах і їх рухомих з'єднаннях в ґрунтах»(1993) за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра «Perkin - Elmer 2280».

Вміст гумусу визначали за методом І.В. Тюріна. Насіння тест-рослин пророщують в чашках Петрі в ґрунті. На кожен варіант використовували по 100 насінин в триразовою повторності. При біотестування водних витяжок насіння пророщували в кварцовому піску. Для забезпечення вологості в чашки Петрі додавалася або водна витяжка ґрунту контрольного пункту, або водна витяжка ґрунтів експериментальних пунктів.

Всхожість і енергія проростання насіння тест-рослин визначалася за загальноприйнятими методиками (ГОСТ 12039-82 і ГОСТ 12038-84).

Зважування та вимірювання довжини підземної та надземної частини тест-рослин проводили у десятиденних проростків редису і крес-салату.

Вимірювання довжини вищевказаних частин тест-рослин проводили за допомогою лінійки, з точністю до 1 мм, зважування досліджуваних органів тест-рослин проводили на аналітичних вагах 2-го класу точності «ВЛР - 200».

При використанні тест-об'єкту цибулі ріпчастої *Allium cepa* у якості тест-відгуку використовували довжину коренів цибулин, мітотичний індекс, всхожість насіння, довжину і масу надземної/підземної частини проростків тест-рослин, активність каталази в проростках тест-рослин [23].

Вимірювання довжини коренів у цибулин *Allium cepa* при біотестуванні ґрунтових витяжок проводили на 4, 7 і 14 добу. Для кожного пункту використовували по 12 цибулин в чотирикратному повторенні. Активність каталази в чотириденних проростках редису, крес-салату, визначали газометричним методом в модифікації О.І. Єрмакова.

У кореневій меристемі проростків цибулі ріпчастої визначали мітотичний індекс як відсоток поділених від загальної кількості спостережуваних клітин. Тимчасові роздавлені препарати готувалися за загальноприйнятою методикою. Препарати досліджувалися під мікроскопами МБІ-3 і МРУ-5. У кожному варіанті нараховувалося від 2000 до 3000 клітин.

Відсоток інгібування тест-відгуку рослин обчислювали за формулою:

$$I = 100\% - \frac{K_1 \times 100\%}{K_2}, \quad (2.2)$$

де I – відсоток інгібування тест-відгуку рослин (%);

$K_1$  – середнє значення тест-відгуку рослин в дослідженні;

$K_2$  – середнє значення тест-відгуку рослин в контролі.

Індекс токсичності ґрунтів (водної витяжки ґрунтів) пунктів розраховували для кожної тест-функції [24].

## РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ФІТОТОКСИЧНОГО ЕФЕКТУ НАФТИ

У зв'язку з актуальністю проблеми забруднення об'єктів довкілля нафтопродуктами на базі кафедри прикладної екології були проведені дослідження з метою виявлення впливу указанного ксенобіотика на проростання та ріст рослин, що визначені як основні показники тест-реакції.

### 3.1 Методика проведення фітотоксичного випробування

Для дослідження токсичного впливу нафти на фіто-тести використовували забруднений нафтопродуктами ґрунт масою 0,5 кг. Концентрація ксенобіотика у тестових зразках становила  $2 \cdot 10^4$  мг/кг,  $4 \cdot 10^4$  мг/кг,  $8 \cdot 10^4$  мг/кг,  $12 \cdot 10^4$  мг/кг. Для здійснення дослідження у кожен ємність із забрудненим ґрунтом вносили насіння рослин і порівнювали отримані показники з результатами в контрольному зразку, у який нафту не вносили.

Дослід проводили протягом 21 доби. Для визначення фітотоксичного ефекту (ФЕ, %) використовували насіння різних видів однодольних та дводольних рослин: вівса (*Avena*), крес-салату садового (*Lepidium sativum*) та пшениці (*Triticum*). Тест-реакцію або відгук оцінювали за показниками всхожості, довжиною кореня та пагона. Для обробки результатів застосовували формули 3.1 і 3.2.

Дослідження проводилося згідно методики, описаної у ДСТУ ISO 11269-2:2002 Якість ґрунту. Визначення дії забрудників на флору ґрунту. Частина 2: Вплив хімічних речовин на проростання та ріст вищих рослин.

На 21 день дослідження були отримані показники тест-реакції піддослідних рослин для вівса, крес-салату та пшениці за показниками енергії всхожості, довжини кореня та пагона (таблиця 3.1).



Таблиця 3.1 – Показники тест реакції для вівса, крес-салату та пшениці

	Зразки	Всхожість, шт.	L <sub>корінь</sub> , см	L <sub>пагін</sub> , см
Овес	Контрольний	22	11,7	12,4
	№1 (2 · 10 <sup>4</sup> мг/кг)	21	11	10,3
	№2 (4 · 10 <sup>4</sup> мг/кг)	5	10,8	10
	№3 (8 · 10 <sup>4</sup> мг/кг)	4	9,9	10,8
	№4 (12 · 10 <sup>4</sup> мг/кг)	4	2,9	6,5
Крес-салат	Контрольний	30	1,6	4,5
	№1 (2 · 10 <sup>4</sup> мг/кг)	2	1	1,3
	№2 (4 · 10 <sup>4</sup> мг/кг)	10	1,2	2,3
	№3 (8 · 10 <sup>4</sup> мг/кг)	19	1	2,5
	№4 (12 · 10 <sup>4</sup> мг/кг)	11	0,8	1,9
Пшениця	Контрольний	10	16,2	20,2
	№1 (2 · 10 <sup>4</sup> мг/кг)	9	11,1	16
	№2 (4 · 10 <sup>4</sup> мг/кг)	5	9,2	15,6
	№3 (8 · 10 <sup>4</sup> мг/кг)	2	6	7,2
	№4 (12 · 10 <sup>4</sup> мг/кг)	0	0	0

Для визначення фітотоксичного ефекту від впливу нафти на всхожість, довжину кореня та довжину пагона було використано формули 3.1 і 3.2.

$$\Phi E = \frac{B_0 - B_1}{B_0} \times 100, \quad (3.1)$$

$$\Phi E = \frac{L_0 - L_1}{L_0} \times 100, \quad (3.2)$$

де B<sub>0</sub> – всхожість в контрольному зразку, шт.;

B<sub>1</sub> – всхожість в експериментальному зразку, шт.;

L<sub>0</sub> – довжина кореня (пагона) в контрольному зразку, см;

L<sub>1</sub> – довжина кореня (пагона) в експериментальному зразку, см [7].

Оцінку результатів здійснювали за шкалою рівнів токсичності ґрунтів Джура та ін. (2006) (табл. 3.2) [25].

Таблиця 3.2 – Шкала рівнів токсичності ґрунтів Джура та ін. (2006) [7]

Рівні пригнічення ростових процесів (фітотоксичний ефект), %	Рівень токсичності
0-20	Відсутність або слабкий рівень
20,1-40	Середній рівень
40,1-60	Вище середнього рівня
60,1-80	Високий рівень
80,1-100	Максимальний рівень

Після проведення розрахунків за формулами 3.1 і 3.2 були отримані результати фітотоксичного ефекту для вівса, крес-салату та пшениці (табл. 3.3).

Таблиця 3.3 – Результати фітотоксичного ефекту для вівса, крес-салату та пшениці

	Зразки	Всхожість, %	L <sub>корінь</sub> , %	L <sub>пагінь</sub> , %
1	2	3	4	5
Овес	Контрольний	0	0	0
	№1 ( $2 \cdot 10^4$ мг/кг )	4,5	6	16,9
	№2 ( $4 \cdot 10^4$ мг/кг )	77,3	7,7	19,4
	№3 ( $8 \cdot 10^4$ мг/кг )	81,8	15,4	12,9
	№4 ( $12 \cdot 10^4$ мг/кг )	81,8	75,2	47,6
Крес-салат	Контрольний	0	0	0
	№1 ( $2 \cdot 10^4$ мг/кг )	93,3	37,5	71,1
	№2 ( $4 \cdot 10^4$ мг/кг )	66,7	25	48,9
	№3 ( $8 \cdot 10^4$ мг/кг )	36,7	37,5	44,4
	№4 ( $12 \cdot 10^4$ мг/кг )	63,3	50	57,8

1	2	3	4	5
Пшениця	Контрольний	0	0	0
	№1 ( $2 \cdot 10^4$ мг/кг )	10	31	20
	№2 ( $4 \cdot 10^4$ мг/кг )	50	43	24
	№3 ( $8 \cdot 10^4$ мг/кг )	80	63	64
	№4 ( $12 \cdot 10^4$ мг/кг )	100	100	100

Відповідно до проведеної роботи та отриманих результатів були побудовані графіки залежності фітотоксичного ефекту від концентрації нафти в ґрунті за різними показниками (рисунки 3.1, 3.2, 3.3).

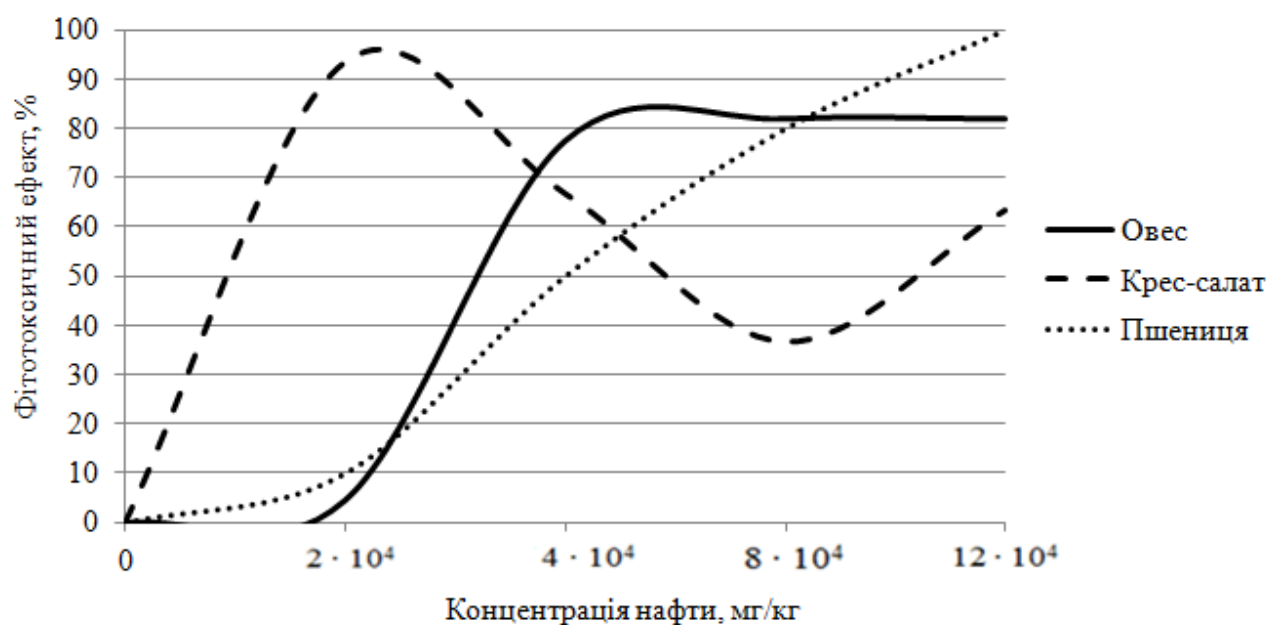


Рисунок 3.1 – Залежність фітотоксичного ефекту від концентрації нафти в ґрунті (за всхожістю)

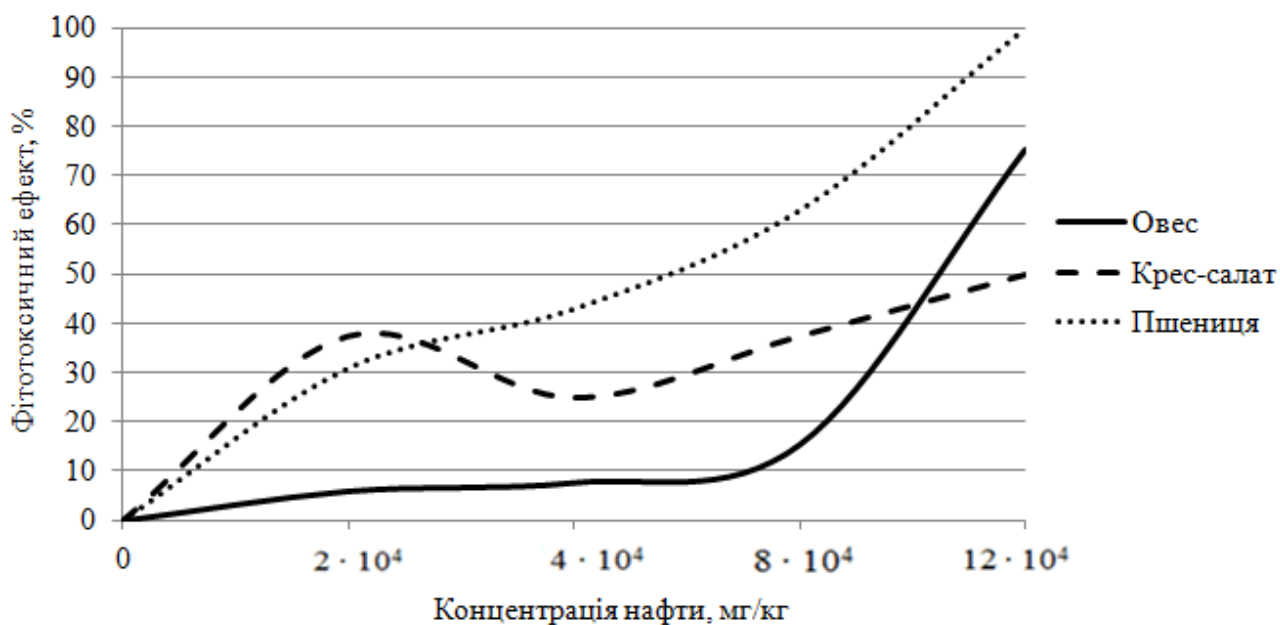


Рисунок 3.2 – Залежність фітотоксичного ефекту від концентрації нафти в ґрунті (за довжиною кореня)

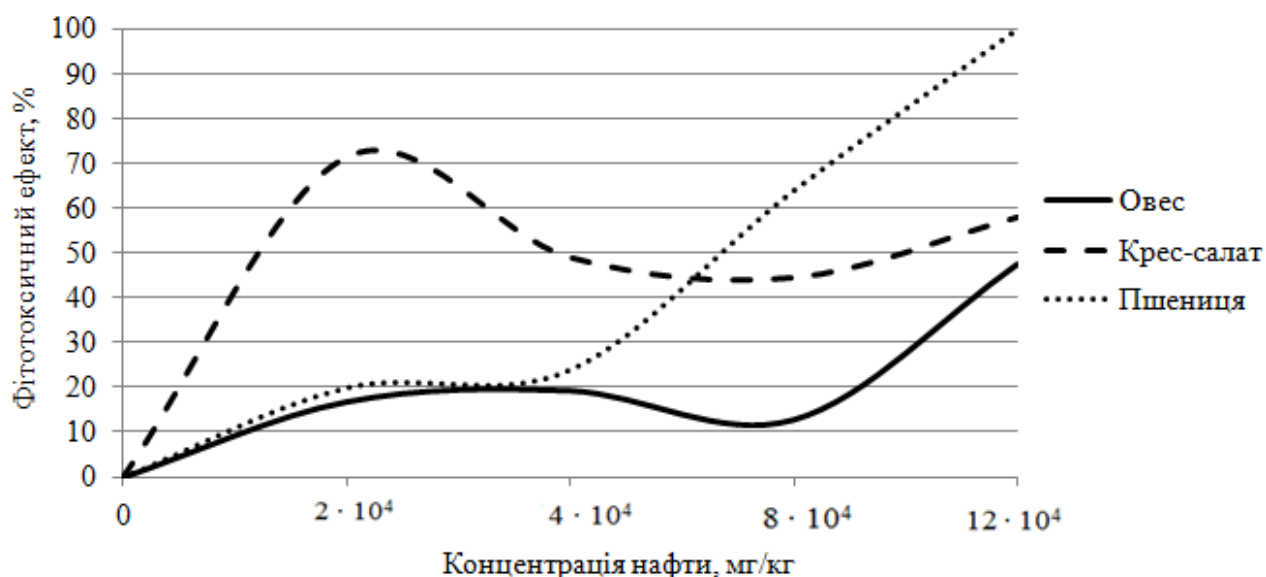


Рисунок 3.3 – Залежність фітотоксичного ефекту від концентрації нафти в ґрунті (за довжиною пагона)

Аналіз результатів для кожного зразка здійснювався за таблицею 3.2.

Овес:

Зразок №1 – всхожість, довжина кореня/пагона – відсутній або слабкий рівень токсичності.

Зразок №2 – всхожість – високий рівень токсичності, довжина кореня/пагона – відсутній або слабкий рівень токсичності.

Зразок №3 – всхожість – максимальний рівень токсичності, довжина кореня/пагона – відсутній або слабкий рівень токсичності.

Зразок №4 – всхожість – максимальний рівень токсичності, довжина кореня – рівень токсичності високий, довжина пагона – рівень токсичності вище середнього рівня.

#### Крес-салат

Зразок №1 – всхожість – максимальний рівень токсичності, довжина кореня – середній рівень токсичності; довжина пагона – високий рівень токсичності.

Зразок №2 – всхожість – високий рівень токсичності, довжина кореня – середній рівень токсичності; довжина пагона – рівень токсичності вище середнього.

Зразок №3 – всхожість – середній рівень токсичності, довжина кореня – середній рівень токсичності, довжина пагона – рівень токсичності вище середнього.

Зразок №4 – всхожість – високий рівень токсичності, довжина кореня/пагона – рівень токсичності вище середнього рівня.

#### Пшениця

Зразок №1 – всхожість/довжина пагона – слабкий рівень токсичності, довжина кореня – середній рівень токсичності

Зразок №2 – всхожість/довжина кореня – токсичність вище середнього рівня; довжина пагона – середній рівень токсичності.

Зразок №3 – всхожість/довжина кореня/довжина пагона – високий рівень токсичності.

Зразок №4 – всхожість/довжина кореня/довжина пагона – максимальний рівень токсичності.

Встановлено, що при концентрації  $4 \cdot 10^4$  мг/кг ґрунту нафта виявляє високий рівень токсичності на всхожість вівса. При концентрації  $12 \cdot 10^4$  мг/кг

грунту рівень токсичності для середньої довжини кореня та пагона вівса досягає високого та вище середнього відповідно.

При концентрації нафти від  $2 \cdot 10^4$  мг/кг до  $12 \cdot 10^4$  мг/кг ґрунту рівень токсичності для всхожості салату змінюється у межах від максимального до середнього. При оцінці середньої довжини кореня та пагона крес-салату в усіх тестових зразках рівень токсичності варіює між середнім та високим.

При концентрації нафти  $8 \cdot 10^4$  мг/кг ґрунту нафта виявляє високий рівень токсичності на показники всхожості, довжини кореня та довжини пагона пшениці.

Згідно проведених спостережень, вимірювань, здійснених розрахунків та аналізу отриманих результатів найбільш перспективним із використаних у досліді рослин для фітореMediaції ґрунтів є овес.

## ВИСНОВКИ

У зв'язку зі швидким розвитком промисловості, у т.ч. нафтопереробної, антропогенний вплив на навколишнє середовище зростає у геометричній прогресії.

Забруднення довкілля нафтою відбувається на всіх етапах її життєвого циклу: буріння, переробки, зберігання, транспортування і ліквідації обладнання.

Навіть при повній автоматизації виробництва неможливо виключити людський фактор та стан працюючих технологій. Нерідко причинами потрапляння нафтопродуктів у навколишнє середовище є аварії на нафтовидобувних станціях, при транспортуванні, застаріле обладнання.

Разом із модернізацією технологій по видобутку нафти необхідно змінювати способи боротьби із забрудненням нафтопродуктами довкілля на більш сучасні та найменш впливові. У цьому випадку найсерйознішою проблемою постає економічна спроможність підприємства вживати відповідних заходів.

Тому найкращою стратегією залишається попередження потрапляння забрудників у навколишнє середовище.

Для визначення наявності та концентрації ксенобіотиків у довкіллі розроблені різні методики біоіндикації забруднюючих речовин. У результаті лабораторних досліджень та здійснених розрахунків визначено концентрації нафти, які виявляють високий рівень токсичності на різні показники представників рослинного світу.

Рослини є одним із дешевих способів біоіндикації навколишнього середовища. Це робить їх більш перспективними для майбутнього використання в дослідженнях.

Згідно отриманих результатів дослідження найбільш стійким до забруднень нафтопродуктами є овес. Тобто цю рослину найдоцільніше використовувати для фітореMediaції ґрунтів після забруднення вказаним вище ксенобіотиком.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Семёнов В.В. Экологическая идентификация источников загрязнений нефтяными углеводородами / В.В. Семёнов, М.А. Пименова, П.К. Ивахнюк, А.В. Носевич // Разведка и охрана недр. М.: Недра. – 2005. – №5. – С. 57–61.
2. Нафтове забруднення поверхневих вод та шляхи подолання його наслідків [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://tb.chdu.edu.ua/article/viewFile/44560/40692>
3. Шестопалов О. В. Охрана навколишнього середовища від забруднення нафтопродуктами: навч. посіб. / Шестопалов О. В., Бахарєва Г. Ю., Мамєдова О. О. та ін.– Х. : НТУ «ХПШ», 2015. – 116 с.
4. Хаустов А. П. Охрана окружающей среды при добыче нефти / А. П. Хаустов, М. М. Редина. – М.: «Дело», 2006. – 84 с.
5. Воеводина Т.С. Влияние нефти на химические свойства чернозема обыкновенного Южного Предуралья / Т.С. Воеводина, А.М. Русанов, А.В. Васильченко // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2015. – №10 (185). – С. 157-161.
6. Ежелев З.С. Свойства и режимы рекультивированных после разливов нефти почв Усинского района Республики Коми: дис.... канд. биол. наук : 06.01.03 – Агрочвоведение и агрофизика / Ежелев Захар Сергеевич. – Москва, 2015. – 142 с.
7. Процько Я.І. Вплив нафти та нафтопродуктів на ґрунтовий покрив // Вісн. Полтавськ. держ. аграрн. академії. – 2010. – Вип. 2. – С. 189-191.
8. Пукіш А. В. Підвищення екологічної безпеки при спорудженні нафтогазових свердловин : автореф. дис. ... канд. техн. наук : 21.06.01 – екологічна безпека / Пукіш А. В. – Івано-Франківськ, 2008. – 22 с.
9. Маячкина Н.В. Особенности биотестирования почв с целью их экотоксикологической оценки / Н.В. Маячкина, М.В. Чугунова // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2009. – № 1. – С. 84–93.



10. Рысбаева, Г.А. Роль спонтанной и внесенной микрофлоры в биодegradации углеводородов нефти в нефтезагрязненных почвах ЮКО: автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Рысбаева Гаухар. – Алматы, 2007. – 24 с.

11. Gradova, N.B. Use of Bacteria of the Genus Azotobacter for Bioremediation of Oil-Contaminated Soils / N.B. Gradova, I.V. Gornova, R. Eddaoudi // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2003. – V. 39. – № 3. – P. 279-281.

12. Применение метода биотестирования в анализе токсичности природных и сточных вод: Монография. – Нижневартовск: Изд-во Нижневарт. гуманит. ун-та, 2009. – 94 с.

13. Єфремова О. О. Біотестування. Сучасний стан практичного використання / О. О. Єфремова, І. П. Крайнов // *Вісник Кременчуцького державного політехнічного університету*. – 2006. – №6. – С. 27 – 30.

14. Колесников, С.И. Биодиагностика экологического состояния почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами / С.И. Колесников, К.Ш. Казеев, В.Ф. Вальков. – Ростов-на-Дону: Изд-во Ростиздат, 2007. – 192 с.

15. Dorn, P.B. Temporal ecological assessment of oil contaminated soils before and after bioremediation / P.B. Dorn, J.P. Salanitro // *Chemosphere*. – 2000. – Vol. 40. – P. 419-426.

16. Терехова В.А. Биоиндикация и биотестирование в экологическом контроле / В.А. Терехова // *Использование и охрана природных ресурсов*. – 2007. – №1(91). – С. 88–90.

17. Остроумов, С.А. Некоторые аспекты оценки биологической активности ксенобиотиков / С.А. Остроумов // *Вестник Моск. ун-та. Сер. 16, Биология*. – 1990. – № 2. – С. 27-34.

18. Використання рослинних тест-систем для оцінки токсичності техногенно забруднених субстратів / З. М. Бешлей, С. В. Бешлей, В. І. Баранов, О. І. Терек // *Вісник Харківського національного аграрного університету*. – 2014. – №1(31). – С. 97-102.

19. Международный стандарт ISO 11268-1. Качество почвы. Воздействие загрязняющих веществ на земляных червей (*Eisenia fetida*). Ч. 1. Определение острого токсического эффекта на *Eisenia foetida*/*Eisenia andrei*»//Intern. Organization for Standardization [Electronic resource]. Geneva, 2012. 18 с. URL: [http://www.iso.org/iso/ru/home/store/catalogue\\_tc/catalogue\\_detail.htm?csnumber=53527&commid=54328](http://www.iso.org/iso/ru/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=53527&commid=54328)

20. Плешакова Е.В. Оценка токсичности почвы, загрязненной буровыми растворами и их компонентами, с использованием дождевых червей породы «Старатель» / Е.В. Плешакова, А.Ю. Беляков // Поволжский Экологический Журнал. – 2014. – №3. – С. 393–402.

21. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодovitости дафний. ФР.1.39.2001.00283. М.: Акварос, 2001. – 47 с.

22. Куделин В.М., Тимошенко Г.А., Толстихина В.С. Токсикологическая оценка сточных и дренажных вод Байкальского целлюлозно-бумажного комбината // Экология. 2004. № 1. С. 74–76.

23. Leme D. M. Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application / D. M. Leme, M. A. Marin-Morales // Mutation Research – Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. – 2009. – Vol. 682(1). – P. 71–81.

24. Лисовицкая О.В. Фитотестирование: основные подходы, проблемы лабораторного метода и современные решения / О.В. Лисовицкая, В.А. Терехова // Доклады по экологическому почвоведению. – 2010. – №1. – Вып. 13. – С. 1–18.

25. Джура Н. М., Романюк О. І., Гонсьор Ян, Цвілінюк О.М., Терек О.І. Використання рослин для рекультивації ґрунтів, забруднених нафтою і нафтопродуктами // Екологія та ноосферологія. – 2006. Т. 17, вип. 1-2. – С. 55-60.

ДОДАТКИ  
ДОДАТОК А



Рисунок А.1 – 9 день досліду (верхній ряд – овес, нижній ряд – крес-салат)



Рисунок А.2 – 14 день досліду (верхній ряд – овес, нижній ряд – крес-салат)



Рисунок А.3 – 21 день досліду  
(верхній ряд – овес, нижній ряд – крес-салат)