

Формулы Фармации. 2021. Т. 3, № 4. С. 102-107

Краткое сообщение

УДК: 504.064.3;504.064

DOI:<https://doi.org/10.17816/phf106205>

## Экотоксикологическая оценка отходов и почвенного покрова антропогенно загрязненных территорий с использованием биотест-систем

© 2022. Тамара Викторовна Бардина<sup>1,2</sup>, Александра Германовна Подборонова<sup>1,3</sup>, Людмила Валерьевна Склярова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>Радиевый институт им. В. Г. Хлопина, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку:

Тамара Викторовна Бардина, [bardina.tamara@pharminnotech.com](mailto:bardina.tamara@pharminnotech.com)

**АННОТАЦИЯ.** Рассмотрена возможность применения для экотоксикологической оценки отходов нефтедобывающей промышленности (буровые шламы) и загрязненного почвенного покрова объектов накопленного экологического ущерба, расположенных на северо-западе России, различных методов биотестирования совместно с химико-аналитическими методами. Экотоксикологические исследования методами биотестирования проводились с применением тест-организмов из разных систематических групп. Были использованы общепринятые и авторские методики биотестирования. Предложенный набор биотест-систем для целей экологического контроля таких объектов, совместно с химико-аналитическими методами, позволяет повысить достоверность результатов исследований.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** биотестирование, тест-организм, токсичность, элюатное и контактное биотестирование, объекты прошлого экологического ущерба

### СОКРАЩЕНИЯ:

ПДК – предельно допустимая концентрация;

ОВОС – оценка воздействия на окружающую среду;

НИЦЭБ – Научно-исследовательский центр экологической безопасности;

МПР РФ – Министерство природных ресурсов и экологии Российской Федерации;

РАН – Российская академия наук;

БШ – буровой шлам;

СП – Санитарные правила;

ПХБ – полихлорированные бифенилы;

ТБО – твердые бытовые отходы;

НЭУ – накопленный экологический ущерб.



**ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время стало ясно, что для экологической оценки таких объектов как различные отходы, антропогенно загрязненный почвенный покров, осадки сточных вод, поверхностные и грунтовые воды, применение для установления наличия токсичных веществ только методов аналитической химии имеет ряд серьезных недостатков.

К ним относятся:

- недостаточное количество разработанных ПДК;
- невозможность учета кумулятивного токсического эффекта;
- появление новых токсичных веществ;
- высокая стоимость определения.

В связи с этим, в последнее время, наряду с химическими методами, при проведении экологической оценки и контроле состояния таких объектов применяют методы биотестирования [1].

Биотестирование – проводимый в лабораторных условиях вид биологического контроля объектов окружающей среды, основанный на измерении тест-реакции тест-организма (тест-культуры) к вредным факторам. Биотестирование токсичности объектов окружающей среды стало обязательным элементом программы ОВОС.

Биотестирование носит интегральный характер, т.к. суммирует действие всех токсикантов на объект, не выявляет конкретный токсикант. Но тем самым биотесты помогают дать полную оценку экологического риска.

Для методов биотестирования характерны:

- экспрессность;
- доступность;
- простота эксперимента;
- экономичность;
- воспроизводимость и достоверность полученных результатов.

Тест-культура (тест-организм) – это лабораторная популяция особей, искусственно поддерживаемая в лабораторных условиях и используемая для оценки токсичности при биотестировании.

Лабораторные тест-организмы, часто используемые в аттестованных методиках:

- бактерии;
- простейшие, водоросли;
- ракообразные;
- рыбы;
- семена высших растений;
- клетки млекопитающих.

Используются методы биотестирования: элюатный (анализ водной вытяжки) и контактный (анализ твердого образца).

При применении методов биотестирования необходимо осуществить качественный переход от увеличения числа биотестов к стратегии научно-обоснованного выбора методов биотестирования и использования надежных стандартизированных биотест-систем на конкретных объектах [2].

**ПРИМЕРЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕСТ-ОРГАНИЗМОВ**

Была проведена экотоксикологическая оценка шести буровых шламов (отходов нефтедобывающей промышленности) с помощью аттестованных методик контактного и элюатного биотестирования, в том числе разработанными в НИЦЭБ РАН, с использованием тест-организмов различного трофического уровня [3].

Биотестирование, проведенное на дафниях (рис. 1), показало, что водные вытяжки из всех проб буровых шламов не оказывали угнетающего действия на эти организмы [4].



Рис. 1. Дафнии  
Fig. 1. Daphnia

Таким образом, согласно Приказу МПР РФ № 536, пробы проанализированных БШ являются нетоксичными и могут быть отнесены к V классу опасности отходов.

При биотестировании водных вытяжек из проб БШ с использованием в качестве тест-организма инфузорий (рис. 2) было выявлено, что БШ № 4 по результатам биотеста относится к IV классу опасности (малоопасные) [5].



Рис. 2. Инфузория  
Fig. 2. Infusoria

Результаты фитотестирования показали (рис. 3), что все БШ являются малоопасными, а БШ № 4 относится к умеренно опасным отходам (III класс). Таким образом, семена пшеницы оказались тест-культурой, более чувствительной к наличию загрязняющих веществ в буровых шламах [6].



Рис. 3. Фитотестирование  
Fig. 3. Phytotesting

Испытание водных вытяжек буровых шламов на культуре клеток теплокровных *in vitro* была произведена на основе методики выполнения измерений индекса токсичности по изменению подвижности половых клеток млекопитающих с помощью видеоанализатора [7]. Индекс токсичности водных вытяжек находился в пределах установленного методикой диапазона, соответствующего оптимальной подвижности сперматозоидов ( $80\% < I_t < 120\%$ ), т.е. данный биотест показал безопасность этих вытяжек для клеток теплокровных животных. Таким образом, по результатам биотестирования на сперме быка, все БШ относятся к V классу опасности (не токсичные) согласно Постановлению №536 Минприроды или к IV классу опасности (малоопасные) согласно СП 2.1.7.1386-03 (табл. 1).

Результаты биотестирования водных вытяжек из буровых шламов и отходов на сперме быка  
 Results of biotesting of water extracts from drilling mud and waste on bull semen

№ пробы	Величина разведения вытяжки	Индекс токсичности $I_t$ , %	Токсичность водной вытяжки
1	Без разведения	94,8	Не токсична
2	Без разведения	88,2	Не токсична
3	Без разведения	94,8	Не токсична
4	Без разведения	94,8	Не токсична
5	Без разведения	101,7	Не токсична
6	Без разведения	94,9	Не токсична

Следующий объект исследования – почвенный покров территории зоны влияния отвала промышленных отходов без инженерных средств защиты, расположенный на окраине п. Морозова во Всеволожском районе Ленинградской области (рис. 4). На объекте в течение 57 лет складировались отходы производства серной кислоты. Общий объем накопленных отходов составлял 120 тыс. тонн, высота – восемь метров. Общая площадь влияния – 6,7 гектара. Загрязнение распространяется по «розе ветров» и в растворимой форме с поверхностными и грунтовыми водами сносится в Ладожское озеро и к истокам р. Невы. Выбранные мониторинговые площадки располагались на шести разных участках территории влияния отвала.



Рис. 4. Вид отвала и территории  
 Fig. 4. View of the dump and the territory

Содержание органических токсикантов (полихлорированных бифенилов, нефтепродуктов, 3,4 бенз(а)-пирена) не превышало соответствующие нормативы и фон. Категория почв по суммарному загрязнению тяжелыми металлами была отнесена к умеренно опасной. Биотестирование было проведено с помощью тест-культуры хлореллы *Chlorella vulgaris* Beijer [8] (табл. 2).

Результаты определения токсичности отвала и почв с использованием зеленых водорослей *Chlorella vulgaris* Beijer  
 Results of determining the toxicity of the dump and soils using green algae *Chlorella vulgaris* Beijer

№ площадки	Глубина, см	Процентное отклонение от контроля	Оценка токсичности водной вытяжки
1	0–5	+136	Оказывает токсическое действие
	5–20	+57	Оказывает токсическое действие
2	0–5	-13	Не оказывает токсическое действие
	5–20	+5	Не оказывает токсическое действие
3	0–5	+24	Не оказывает токсическое действие
	5–20	+10	Не оказывает токсическое действие
4	0–5	+53	Оказывает токсическое действие
	5–20	+33	Оказывает токсическое действие
5	0–5	-18	Не оказывает токсическое действие
	5–20	-15	Не оказывает токсическое действие
6, отвал	0–5	+251	Оказывает токсическое действие
	5–20	+160	Оказывает токсическое действие
7	0–5	-23	Не оказывает токсическое действие
	5–20	-12	Не оказывает токсическое действие





Полученные с помощью инструментального экспресс-биотеста результаты элюатного биотестирования свидетельствовали о наличии токсичности в верхних горизонтах почвенного покрова на двух мониторинговых площадках, а также в отвале.

Таким образом, результаты выполненных с помощью предложенной биотест-системы токсикологических исследований показали, что она имеет хорошую чувствительность к присутствию водорастворимых токсикантов в почвенном покрове зоны влияния объекта накопленного экологического ущерба. Примененная биотест-система может быть использована для оценки риска распространения загрязнения при мониторинге экологического состояния почвенного покрова территории с долговременным размещением отходов и с кислой реакцией среды [9].

Следующий объект исследования являлся объектом вторичного накопленного ущерба. Исследовался почвогрунт карьера в Приневской низменности, рекультивированного с использованием суглинистого грунта и ТБО (рис. 5).



Рис. 5. Общий вид карьера  
Fig. 5. General view of the quarry

Были использованы следующие наборы тест-организмов и методики биотестирования: инфузория туфелька (*Paramecium caudatum*) и дафнии (*Daphnia magna* Straus).

Химические анализы показали, что содержание органических токсикантов и тяжелых металлов в почвогрунте не превышало нормативы. Однако проведенное био-

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Терехова В. А. Биотестирование экотоксичности почв при химическом загрязнении: современные подходы к интеграции для оценки экологического состояния (обзор) / В. А. Терехова // Почвоведение. – 2022. – Т. 55. – № 5. – С. 601-612.
2. Olkova A. S. Modern trends in the development of the methodology of bioassay aquatic environments // Theoretical and Applied Ecology. 2018. Vol. 3. P. 19–26. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2018-3-019-026>
3. Kapelkina L. P., Bardina T. V., Chugunova M. V., et al. The Ecological Assessment of Petroleum Industry Wastes The Ecological Assessment of Petroleum Industry Wastes // Proceedings of the International Symposium «Engineering and Earth Sciences: Applied and Fundamental Research» dedicated to the 85th anniversary of H.I. Ibragimov (ISEES 2019). 2019. Vol. 1. P. 713–717. <https://doi.org/10.2991/isees-19.2Q19.142>
4. ФР.1.39.2007.03222. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточ-

Табл. 3.  
Результаты определения токсичности образцов почвогрунтов разными методами биотестирования

Table 3.  
Results of determining the toxicity of soil samples by different methods of biotesting

Площадка, глубина, см	Инфузории	Дафнии	
		Острая токсичность	Хроническая токсичность
1,0–5	нет токсичности	нет токсичности	токсичность
1,5–20	нет токсичности	нет токсичности	токсичность
2,0–5	нет токсичности	нет токсичности	токсичность
2,5–20	нет токсичности	нет токсичности	нет токсичности
3,0–5	токсичность	нет токсичности	токсичность
3,5–20	нет токсичности	нет токсичности	токсичность

тестирование водной вытяжки образцов почвогрунта выявило наличие острой токсичности на одной площадке (табл. 3). Наличие хронической токсичности водных вытяжек было выявлено на всех площадках [10].

Различные тест-культуры при биотестировании имеют неравную чувствительность к широкому спектру токсикантов, присутствующих в почвогрунте объекта НЭУ. Для выявления риска в экосистеме оценка токсичности должна осуществляться по наиболее чувствительному варианту.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При формировании «блока» биотест-систем для экотоксикологической оценки отходов и почвенного покрова северо-западного региона, с учетом загрязнения их широким набором химических веществ, надо ориентироваться на применение стандартизированных методик элюатного и контактного биотестирования с использованием в качестве тест-организмов живых культур разных трофических уровней.

ных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний.

5. ПНД Ф Т 16.3.16-10 (ред. 2015 г.) ФР.1.39.2015.19244. Методика определения токсичности отходов производства и потребления экспресс-методом с применением прибора серии «Биотестер».

6. ФР. 1.39.2004.0106. Методика определения класса опасности буровых шламов. М-БШ-01-2004.

7. ФР. 1.31.2009.06301. Методика выполнения измерений индекса токсичности почв, почвогрунтов, вод и отходов по изменению подвижности половых клеток млекопитающих in vitro.

8. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4. 10-04. Методика измерения оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод и отходов производства и потребления.

9. Bardina T. V., Chugunova M. V., Kulibaba V. V., et al. Ecotoxicological assessment of brownfield soil by bioassay. In: *Advances in Understanding Soil Degradation*. Springer International Publishing; 2022. P. 333-350. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-85682-3>.

10. Бардина Т. В. Оценка экологического состояния почвогрунтов рекультивированного карьера с использованием методов биотестирования / Т. В. Бардина, М.В.Чугунова,В.В.Кулибаба[и др.]//Биосфера.–2020.–Т.12.–№ 1-2. – С. 1–11. <https://doi.org/10.24855/BIOSFERA.V12I1.539>

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Тамара Викторовна Бардина** – канд. биол. наук, доцент кафедры промышленной экологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации; старший научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского центра экологической безопасности РАН, Санкт-Петербург, Россия, [bardina.tamara@pharminnotech.com](mailto:bardina.tamara@pharminnotech.com)

**Александра Германовна Подборонова** – магистрант Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации; инженер 2 категории Лаборатории комплексных технологий по выделению изотопов и продуктов деления Радиевого института им. В. Г. Хлопина, Санкт-Петербург, Россия, [podboronova.aleksandra@pharminnotech.com](mailto:podboronova.aleksandra@pharminnotech.com)

**Людмила Валерьевна Склярва** – магистрант Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, [sklyarova.lyudmila@spsru.ru](mailto:sklyarova.lyudmila@spsru.ru)

**Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.**

Статья поступила в редакцию 01.04.2022 г., одобрена после рецензирования 10.04.2022 г., принята к публикации 15.04.2022 г.

*Pharmacy Formulas*. 2021. Vol. 3, no. 4. P. 102-107

Short message

## Ecotoxicological assessment of waste and soil cover of anthropogenically caused pollution of the territories using biotest systems

© 2022. Tamara V. Bardina<sup>1,2</sup>, Alexandra G. Podboronova<sup>1,3</sup>, Ludmila V. Sklyarova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Scientific Research Centre for Ecological Safety, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

<sup>3</sup>V. G. Khlopin Radium Institute, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author: Tamara V. Bardina, [bardina.tamara@pharminnotech.com](mailto:bardina.tamara@pharminnotech.com)

**ABSTRACT.** The possibility of using various methods of biotesting together with chemical-analytical methods for the ecotoxicological assessment of waste from the oil industry (drilling sludge) and contaminated soil cover of objects of accumulated environmental damage located in the north-west of Russia is considered. Ecotoxicological studies by biotesting methods have been carried out using test organisms from different systematic groups. Conventional and proprietary biotesting methods were used. The proposed set of biotest systems for the purposes of environmental control of such objects along with chemical and analytical methods may increase the reliability of the research results.

**KEYWORDS:** biotesting, test organism, toxicity, eluate and contact biotesting, objects of past environmental damage

## REFERENCES

1. Terekhova V. A. Biotesting of Soil Ecotoxicity in Case of Chemical Contamination: Modern Approaches to Integration for Environmental Assessment (a Review). *Pochvovedenie=Eurasian Soil Science*. 2022;55(5):601-612. (In Russ.).
2. Olkova A. S. Modern trends in the development of the methodology of bioassay aquatic environments. *Theoretical and Applied Ecology*. 2018;3:19–26. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2018-3-019-026>
3. Kapelkina L. P., Bardina T. V., Chugunova M. V., et al. The Ecological Assessment of Petroleum Industry Wastes. Proceedings of the International Symposium “Engineering and Earth Sciences: Applied and Fundamental Research” dedicated to the 85th anniversary of H. I. Ibragimov (ISEES 2019). 2019;1:713–717. <https://doi.org/10.2991/isees-19.2019.142>
4. FR.1.39.2007.03222. Metodika opredeleniya toksichnosti vody i vodnykh vytyazhek iz pochv, osadkov stochnykh vod, otkhodov po smertnosti i izmeneniyu plodovitosti dafniy. (In Russ.).
5. PND F T 16.3.16-10 (red. 2015 g.) FR.1.39.2015.19244. Metodika opredeleniya toksichnosti otkhodov proizvodstva i potrebleniya ekspres-metodom s primeneniem pribora serii «Biotester». (In Russ.).
6. FR. 1.39.2004.0106. Metodika opredeleniya klassa opasnosti burovykh shlamov. M-BSh-01-2004. (In Russ.).
7. FR. 1.31.2009.06301. Metodika vypolneniya izmereniy indeksa toksichnosti pochv, pochvogrunтов, vod i otkhodov po izmeneniyu podvizhnosti polovykh kletok mlekopitayushchikh in vitro. (In Russ.).
8. PND F T 14.1:2:3:4. 10-04. Metodika izmereniya opticheskoy plotnosti kul'tury vodorosli khlorella (*Chlorella vulgaris* Beijer) dlya opredeleniya toksichnosti pit'evykh, presnykh prirodnykh i stochnykh vod, vodnykh vytyazhek iz gruntov, pochv, osadkov stochnykh vod i otkhodov proizvodstva i potrebleniya. (In Russ.).
9. Bardina T. V., Chugunova M. V., Kulibaba V. V., et al. Ecotoxicological assessment of brownfield soil by bioassay. In: *Advances in Understanding Soil Degradation*. Springer International Publishing; 2022. P. 333-350. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-85682-3>
10. Bardina T. V., Chugunova M. V., Kulibaba V. V., et al. The use of biological testing approaches to assessing the ecological conditions of soils in a reclaimed surface mine. *Biosfera=Biosphere*. 2020;12(1-2):1-11. <https://doi.org/10.24855/BIOSFERA.V12I1.539> (In Russ.).

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Tamara V. Bardina** – Ph. D. in Biology, Associate Professor of the Department of Industrial Ecology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; Senior Researcher, Scientific Research Centre for Ecological Safety, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia, [bardina.tamara@pharminnotech.com](mailto:bardina.tamara@pharminnotech.com)

**Alexandra G. Podboronova** – Master Student, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; Engineer of the 2nd category, Laboratory of Complex Technologies for the Separation of Isotopes and Fission Products, V. G. Khlopin Radium Institute, Saint Petersburg, Russia, [podboronova.alexandra@pharminnotech.com](mailto:podboronova.alexandra@pharminnotech.com)

**Lyudmila V. Sklyarova** – Master Student, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia, [sklyarova.lyudmila@spcpu.ru](mailto:sklyarova.lyudmila@spcpu.ru)

The authors declare no conflicts of interests.

The article was submitted April 01, 2022; approved after reviewing April 10, 2022;  
accepted for publication April 15, 2022