

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПОЧВ НА ТЕРРИТОРИИ НЕСАНКЦИОНИРОВАННОГО РАЗМЕЩЕНИЯ БАРДЫ В С. РОЖДЕСТВЕНО МЕТОДОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

© 2023 О.В. Козловская¹, Э.В. Рыжихина², Е.В. Сычева¹, А.Ю. Копнина¹

¹ Самарский государственный технический университет, г. Самара (Россия)

² Институт по проектированию магистральных трубопроводов, филиал «Самарагипротрубопровод», г. Самара (Россия)

Поступила 30.08.2023

Аннотация. Представлены результаты исследования нарушенности почв на территории несанкционированного размещения спиртовой барды в с. Рождествено Самарской области методами биотестирования. Отбор проб и выполнение биотестирования проводили согласно общепринятым методикам: по смертности и изменению плодovitости дафний, по изменению уровня флуорисценции хлорофилла и численности клеток водорослей. Водные вытяжки, приготовленные из почвы двух фоновых проб, не оказывали токсического воздействия на живые организмы, а водные вытяжки из четырех проб, отобранных в районе размещения спиртовой барды, оказывали токсическое воздействие.

Ключевые слова: спиртовая барда, отходы, токсичность, токсическое воздействие, биомониторинг, почвенный покров, биотестирование.

Введение

Несанкционированная свалка промышленных спиртовых отходов была обнаружена в с. Рождествено летом 2012 г. (рис. 1). Беспокорство вызвал устойчивый неприятный запах в Самарском, Октябрьском и Ленинском районах города Самара. Как оказалось, местный спиртзавод ООО «Рождественское» сливал отходы производства прямо на территорию национального парка «Самарская Лука» (Саксонов, Сенатор, 2012).

Свалка начала свое существование не один десяток лет назад на окраине с. Рождествено, где не только происходил незаконный сброс спиртовой барды, но и местные жители утилизировали бытовой хлам на той же территории.

По мере накопления отходов негативное влияние на окружающую среду усиливалось. Для стабилизации экологической обстановки

территория несанкционированного размещения спиртовой барды должна подвергнуться процессу рекультивации (Вольнов, Пыстин, 2019). Одним из важных этапов рекультивации являются инженерно-экологические изыскания, в том числе анализ состояния почвенного покрова различными методами, в числе которых и биотестирование, которое является неотъемлемым компонентом биологического мониторинга (Багдай, Пнас, 2016; Павлов, 2017) для оценки состояния объектов окружающей среды с точки зрения их токсичности (Бабкина, Сафонова, 2015). Метод биотестирования позволяет проследить воздействие на живые организмы (тест-объекты), в то время как при проведении химического анализа это невозможно.

Цель и задачи

Цель исследования – произвести токсикологическую оценку почв на территории несанкционированного размещения барды с. Рождествено с помощью биотестирования. Задачи: определить токсичность биологическим методам контроля – по смертности и изменению плодovitости дафний, по изменению уровня флуорисценции хлорофилла и численности клеток водорослей.

Козловская Ольга Викторовна, канд. биол. наук, доцент, savenkoov@mail.ru;

Рыжихина Элина Витальевна, инженер, elinasannikova@mail.ru;

Сычева Елена Викторовна, канд. с-х. наук, slv2010.07@mail.ru;

Копнина Алина Юрьевна, канд.хим. наук, alina-kopnina@yandex.ru



- – граница обследуемой территории
— – границы обследуемых участков размещения спиртовой барды, где:
 1 – малый накопитель, 2 – большой накопитель, 3 – бардохранилище

Рис. 1. Ситуационный план несанкционированного размещения спиртовой барды
Fig. 1. Situational plan of unauthorized placement of alcohol bard

Материалы и методы

Биотестирование проводили в пробирках объемом 100 см³, заполненные 50 см³ водной вытяжки из образцов отобранных проб почвы. В каждую пробирку подсаживали по десять дафний, возрастом 6–24 часов. Для проведения биотестирования необходима синхронизированная культура *Daphnia magna*, которая предварительно была отсортирована по возрасту в отдельном химическом стакане в культивационной воде. И далее поочередно помещаются отловленные рачки по одному в пробирки с исследуемой водой.

Посадка рачков начинается с контрольной серии, начиная с больших разбавлений (меньших концентраций загрязняющих веществ) к меньшим разбавлениям.

Дафний кормили перед началом эксперимента, в последующие сутки ежедневно.

Растворы не меняли. Учет смертности дафний в опыте и контроле проводили через каждый час до конца первого дня опыта, а затем 2 раза в сутки ежедневно до истечения 96 часов.

Неподвижных особей считают погибшими, если не начинают двигаться в течение 15 секунд после легкого покачивания стакана. Результаты наблюдений заносят в рабочий журнал. После того, как результаты эксперимента учтены, все дафнии из стаканов выбрасывают и в каждом стакане проводят измерения pH, температуры, содержания растворенного кислорода с помощью оксиметра. Содержание растворенного кислорода в конце эксперимента должно быть не ниже 2 мг/дм³, pH в диапазоне 7,0–8,5. Все отклонения от установленных норм, а также данные по каждой серии разбавлений, исходной

воды и контроль также заносят в рабочий журнал и протокол результатов эксперимента.

В ходе проведения опытов был произведен подсчет погибших дафний для расчета процента гибели тест-организмов. При определении острой токсичности водной вытяжки из почвы устанавливают среднюю летальную кратность разбавления (ЛКР) водных вытяжек, вызывающую гибель 50% тест-объектов за 96-часовую экспозицию и безвредную кратность разбавления (БКР) водных вытяжек, вызывающую гибель не более 10 % тест-объектов за 96-часовую экспозицию. При БКР $\leq 10\%$ тестируемая вода или водная вытяжка не оказывает острого токсического действия. При ЛКР $\geq 50\%$ тестируемая вода, водная вытяжка оказывает острое токсическое действие. В данном эксперименте результаты показали, что водная вытяжка, приготовленная из почвы двух фоновых проб, не имеет острой токсичности, так как все тест-объекты двигались, то есть смертность сведена к нулю. Это связано с тем, что данные образцы проб почвы были взяты на небольшом удалении от места несанкционированного размещения спиртовой барды. А водные вытяжки из четырех проб, отобранных в районе размещения спиртовой барды оказывают токсическое действие, так как смертность тест-объектов в каждом из растворов превысила 50%.

Для более точного результата проведения биотестирования принято проводить анализ на тест-объектах разных типов, первыми стали ракообразные (Дафнии), вторыми в качестве тест-объекта была выбрана культура зеленой протококковой водоросли *Scenedesmus quadricauda*. Использовалась альгологически чистая культура микроводорослей. Данную культуру водорослей можно культивировать на нескольких средах, была выбрана среда Прата. Эта среда не только хороша для развития водорослей, но также проста для приготовления и состав ее из реактивов, имеющихся в большинстве химико-аналитических лабораторий. Для анализа необходимы водоросли в экспоненциальной стадии роста. Чтобы соблюдать стадийность

роста пересев культуры осуществляется ежедневно. В конических плоскодонных колбах объемом 250–300 см³ в люминостате с интенсивностью освещения не менее 2000–3000 ЛК при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

В работе использовали водные вытяжки подготовленных образцов проб почвы. Эксперименты проводили в серии растворов водных вытяжек. Растворы готовились на дистиллированной воде. Опыты проводили в 2-кратной повторности. При оценке острой токсичности продолжительность опытов составляла 72 часа. Основным критерием токсичности среды является подавление интенсивности флуоресценции хлорофилла водорослей по сравнению с контролем. Измерения проводятся на спектрофлуориметре «Флюорат-02». Спустя 30 минут и 72 часа от начала биотестирования замеряется флуоресценция контрольного раствора. Флуоресценция в исследуемых растворах проводится в конце эксперимента спустя 72 часа. Данные фиксируются в журнал, также фиксируются все остальные данные об эксперименте. Рассчитывается относительное изменение параметра, в процентах.

Результаты и обсуждение

Для оценки токсического воздействия почвы в районе несанкционированного размещения спиртовой барды в с. Рождествено были отобраны четыре пробы почвы: две пробы отобраны на территории малого накопителя, две пробы отобраны на территории большого накопителя, а также в 200 м от исследуемого объекта были отобраны две фоновые пробы (рис. 2).

Образцы проб почвы были помещены в стеклянные банки темного цвета. Вес каждого образца проб составлял более 5 кг. Пробы помещены в переносные сумки-холодильники и доставлены в испытательную лабораторию.

Отбор проб и выполнение биотестирования происходило согласно биологическим методам контроля (Методика определения..., 2007а, б). На рис. 2 представлено лабораторное оборудование для проведения биотестирования.

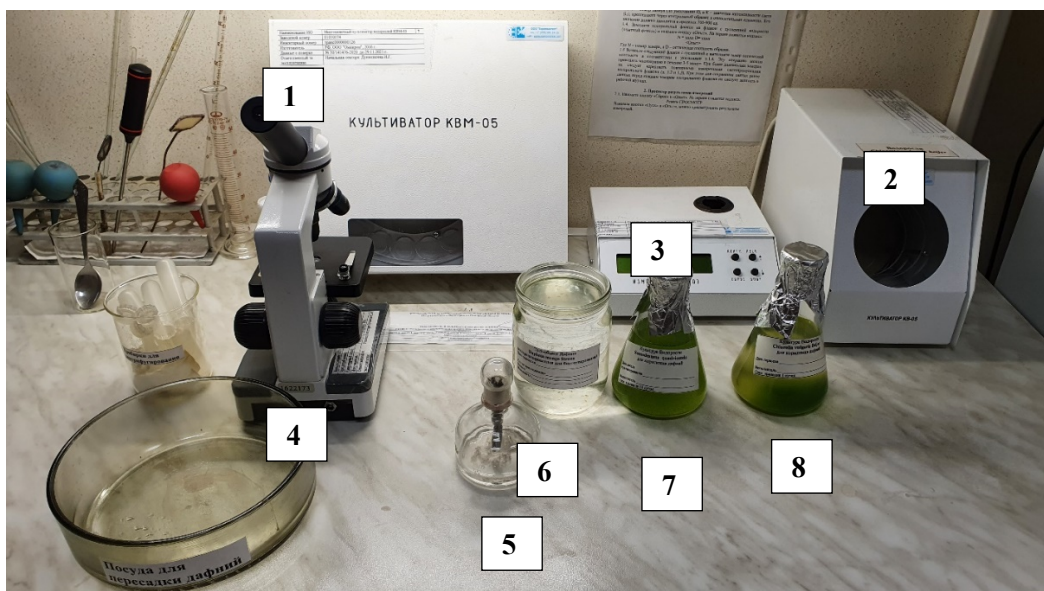


Рис. 2. Лабораторное оборудование для проведения биотестирования: 1 – культиватор КВМ-05; 2 – культиватор КВ-05; 3 – измеритель оптической плотности; 4 – микроскоп; 5 – спиртовая горелка; 6 – тест-объект дафнии; 7, 8 – тест-объекты водоросли

Fig. 2. Laboratory equipment for biotesting: 1 – cultivator KVM-05; 2 – cultivator KV-05; 3 – optical density meter; 4 – microscope; 5 – alcohol burner; 6 – daphnia test object; 7, 8 – algae test objects

Сам процесс биотестирования происходит также в климатостате, температура в начале эксперимента постоянна. Освещение вклю-

чается с заданным интервалом. Результаты представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Результаты биотестирования тест-объектом *Daphnia magna*
Results of biotesting with test object *Daphnia magna*

№ пробы	Смертность, %	Кратность разбавления	Оценка тестируемой пробы
1	0	-	отсутствие острой токсичности
2	0	-	
3	100/0	-/1000	наличие острой токсичности
4	100/0	-/1000	
5	100/0	-/1000	
6	100/0	-/1000	

Таблица 2

Результаты биотестирования тест-объектом *Scenedesmus quadricauda*
Results of biotesting with test object *Scenedesmus quadricauda*

№ пробы	Ингибирование, %	Кратность разбавления	Оценка тестируемой пробы
1	14,28	-	отсутствие острой токсичности
2	11,73	-	
3	74,33/12,50	-/1000	наличие острой токсичности
4	70,71/11,27	-/1000	
5	72,66/11,93	-/1000	
6	71,99/11,80	-/1000	

Заключение

В данном эксперименте результаты показали, что водная вытяжка, приготовленная из почвы двух фоновых проб, не оказывает токсического воздействия. А водные вытяжки из четырех проб отобранных в районе размещения спиртовой барды оказывают токсическое воздействие.

Но также хотелось бы отметить, что помимо очевидного токсического влияния на почву,

спиртовая барда вызывает структурные изменения почвенного покрова. Почва начинает уплотняться, образуются корки, значительно ухудшается водопроницаемость, воздушный и водный режимы почвы ухудшаются, что приводит к нарушению растительности и животного мира (Ильина и др., 2022).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список русскоязычной литературы

Бабкина С.В., Сафонова Е.В. Механизмы антропогенной трансформации флор и подходы к ее анализу // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 6-0. [https://elibrary.ru/download/elibrary_25390231_60624673.pdf].

Багдай Т.В., Пнас Н.В. Биомониторинг экологического состояния природных ресурсов // Экология и право. 2016. № 5. С. 100-109.

Вольнов А.А., Пыстин В.Н. Обследование и рекультивация территорий, техногенно деградированных несанкционированным размещением спиртовой барды. // Экология и безопасность жизнедеятельности промышленно-транспортных комплексов ЕLPIT 2019. Сборник трудов Седьмого международного экологического конгресса (Девятой международной научно-технической конференции). 2019. Т. 5. С. 45-48.

Ильина В. Н., Козловская О. В., Долгополов М. С., Кузьмин Д. И. Структурные Особенности и экологическое состояние осоковых фитоценозов в пойме рек Волга и Самара // Экология и безопасность жизнедеятельности: Сборник статей XXII Международной научно-практической конференции, Пенза, 13–14 декабря 2022 года. Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2022. С. 121-125.

Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей. Федеральный реестр (ФР). ФР.1.39.2007.03223. М.: АКВАРОС, 2007а. 47 с.

Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодovitости дафний. Биологические методы контроля. Федеральный реестр (ФР). ФР 1.39.2007.03222. М.: АКВАРОС, 2007б. 51 с.

Павлов А.Н. Экология: рациональное природопользование и безопасность жизнедеятельности: Учебное пособие. М.: Высшая школа, 2017. 153 с.

Саксонов С.В., Сенатор С.А. Путеводитель по Самарской флоре (1851–2011). Флора Волжского бассейна. Т. I. Тольятти: Кассандра, 2012. 512 с.

Reference List

Babkina S.V., Safonova E.V. Mechanisms of anthropogenic transformation of floras and approaches to its analysis // Modern problems of science and education. 2015. No. 6-0. [https://elibrary.ru/download/elibrary_25390231_60624673.pdf]. (In Russian).

Bagdai T.V., Pnas N.V. Biomonitoring of the ecological state of natural resources // Ecology and Law. 2016. No. 5. P. 100-109. (In Russian).

Volnov A.A., Pystin V.N. Inspection and reclamation of areas technogenically degraded by unauthorized placement of distillery stillage. // Ecology and life safety of industrial and transport complexes ELPIT 2019. Collection of proceedings of the Seventh International Environmental Congress (Ninth International Scientific and Technical Conference). 2019. Vol. 5. P. 45-48. (In Russian).

Ilyina V.N., Kozlovskaya O.V., Dolgoplov M.S., Kuzmin D.I. Structural Features and ecological state of sedge phytocenoses in the floodplain of the Volga and Samara rivers // Ecology and life safety: Collection of articles of the XXII International Scientific and Practical conference, Penza, December 13–14, 2022. Penza: Penza State Agrarian University, 2022. P. 121-125. (In Russian).

Methodology for determining the toxicity of water, water extracts from soils, sewage sludge and waste by changes in the level of chlorophyll fluorescence and the number of algae cells. Federal Register (FR). FR.1.39.2007.03223. Moscow: AQUAROS, 2007a. 47 p. (In Russian).

Methodology for determining the toxicity of water and water extracts from soils, sewage sludge, and waste based on mortality and changes in the fertility of daphnia. Biological control methods. Federal Register (FR). FR 1.39.2007.03222. Moscow: AQUAROS, 2007b. 51 p. (In Russian).

Pavlov A.N. Ecology: rational use of natural resources and safety of life: Textbook. Moscow: Vysshaya shkola, 2017. 153 p. (In Russian).

Saksonov S.V., Senator S.A. Guide to Samara flora (1851–2011). Flora of the Volga basin. Vol. I. Togliatti: Kassandra, 2012. 512 p. (In Russian).

TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF SOILS IN THE TERRITORY UNAUTHORIZED PLACEMENT OF ALCOHOL STILLAGE IN THE VILLAGE ROZHDESTVENO BY THE METHOD OF BIOTESTING

© 2023 **O.V. Kozlovskaya¹, E.V. Ryzhikhina², E.V. Sycheva¹, A.Yu. Kopnina¹**

¹ Samara State Technical University, Samara (Russia)

² Institute for Trunk Pipeline Design, Samaragiprotruboprovod branch, Samara (Russia)

Annotation. The results of a study using biotesting methods for soil disturbance on the territory of unauthorized placement of alcohol stillage in the village Rozhdestveno, Samara Region are presented. Sampling and biotesting were carried out according to generally accepted methods: by mortality and changes in the fertility of daphnia, by changes in the level of chlorophyll fluorescence and the number of algae cells. Aqueous extracts prepared from the soil of two background samples did not have a toxic effect on living organisms, but aqueous extracts from four samples taken in the area where the alcohol stillage was placed had a toxic effect.

Key words: alcohol stillage, waste, toxicity, toxic effects, biomonitoring, soil cover, biotesting.