

УДК 598.2(477.75)

Оценка токсичности буровых растворов для морских бентосных ракообразных

Руднева И. И.¹, Медянкина М. В.², Шайда В. Г.³

¹ Морской гидрофизический институт

Севастополь, Россия

svg-41@mail.ru

² Московский государственный университет технологий и управления имени К. Г. Разумовского

Москва, Россия

³ Общество с ограниченной ответственностью «ЭкоСервис-А»

Москва, Россия

Интенсивное развитие нефтегазового комплекса в шельфовой зоне морей и океанов связано с применением специальных веществ, используемых при бурении скважин. Эти препараты состоят из многих компонентов, некоторые из которых обладают выраженными токсическими свойствами, которые могут оказать негативное действие как на гидробионтов, так и на здоровье людей, употребляющих их в пищу. В связи с этим возникает необходимость оценить токсичность буровых растворов и их действие на различные организмы, обитающие в прибрежной зоне морей. Целью настоящей работы явилось изучение влияния двух видов буровых растворов на морских бентосных амфиподах *Chaetogammarus olivii* (H. Milne Edwards, 1830, Amphipoda) в концентрациях 0,05, 0,1, 0,25, 0,5 и 1 мг/л в течение 30 суток. Влияние буровых растворов на ракообразных оценивали по их гибели через каждые 10 суток в течение 30 суток. Результаты показали различную токсичность тестируемых буровых растворов. Препарат 1 уже на 10-е сутки эксперимента оказал токсическое действие на амфипод при концентрации 0,01 и 0,05 мг/л, на 20-е сутки такой же эффект отмечен при концентрациях 0,25 и 1 мг/л. к концу экспозиции достоверное снижение выживаемости ракообразных отмечено при концентрации 0,25 мг/л и выше. Препарат 2 оказался менее токсичным для амфипод, так как через 10 суток после начала эксперимента не обнаружено различий между опытными группами и контрольной группой. На 20-е сутки число погибших амфипод, при концентрации 0,1 и 0,25 мг/л. существенно превышало эти показатели в контроле, что было отмечено и к концу эксперимента. Результаты исследований показали выраженную токсичность буровых растворов для морских ракообразных, которые могут быть использованы в качестве тест-объектов в экотоксикологических исследованиях.

Ключевые слова: буровые растворы, гаммарус *Chaetogammarus olivii*, токсичность, выживаемость.

ВВЕДЕНИЕ

Интенсивное развитие нефтегазового комплекса на шельфе моря предусматривает применение специальных химических компонентов, используемых при бурении скважин. Если действие нефти и ее продуктов на морских гидробионтов достаточно полно изучено в связи с доминированием этого вида загрязнений в Мировом Океане, основными источниками поступления которого являются аварии судов и танкеров, сбросы балластных и технических вод, речной сток и атмосферные осадки, то информация о токсичности буровых растворов крайне ограничена (Патин, 2015; Beyer et al., 2016). При этом расширение объемов добычи нефти на шельфе приводит к неизбежному попаданию химикатов, применяемых для бурения скважин, в морскую среду, что может неблагоприятно сказаться на морских обитателях. Буровые растворы представляют собой сложные многокомпонентные смеси, в состав которых входят вода, органические растворители, тяжелые металлы, проявляющие токсические эффекты и обладающие мутагенной и канцерогенной активностью (Antia et al., 2022; Pereira et al., 2022). В связи с этим оценка токсичности буровых растворов и установление их допустимых концентраций в водной среде имеет важное практическое и теоретическое значение.

Изменение условий существования на фоне климатических аномалий и действия загрязнителей, также как и сами поллютанты, могут приводить к тяжелым последствиям для водных экосистем и их обитателей, особенно в местах интенсивной хозяйственной деятельности, включая нефте- и газодобычу. Это важно учитывать при разработке тест-

систем, использующих в качестве тест-объектов морских гидробионтов, подвергающихся действию токсических веществ. При этом следует принимать во внимание концентрации токсикантов, которые могут вызывать неоднозначные эффекты у живых организмов, что было показано для нефтяного загрязнения (Hansen et al., 2018).

Цель работы заключалась в оценке влияния двух видов буровых растворов (препарат 1, состоящий из смеси: Глицин, N,N-бис(карбоксиметил)-аммониевая соль (1:2) и препарат 2, в составе которого присутствует трис[тетраakis(гидрокси)метил] фосфоний]сульфат), применяемых при бурении нефтяных и газовых скважин, на амфипод *Chaetogammarus olivii* (H. Milne Edwards, 1830).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве тест-объекта использовали гаммарусов *Chaetogammarus olivii* (H. Milne Edwards, 1830), отловленных в прибрежных водах Черного моря в районе Севастополя (бухты Карантинная и Омега).

Отловленных ракообразных помещали в аквариумы объемом 500 мл по 10 экземпляров в каждый и адаптировали к условиям эксперимента в течение недели при естественном освещении (продолжительность светового дня 12 часов) и температуре $+22\pm 2$ °C. Опыты проводили в трехкратной повторности в течение 30 суток. Контролем служила естественная морская вода соленостью 18 ‰ без добавления веществ. Эксперименты проводили в соответствии со стандартными методами (Вода. Методы определения, 1999; Методические рекомендации, 2009). Действие токсикантов исследовали в концентрациях 0,05, 0,1, 0,25, 0,5 и 1 мг/л. Воду меняли через каждые 10 суток с добавлением соответствующих концентраций препаратов. Влияние буровых растворов на ракообразных оценивали по их гибели через каждые 10 суток в течение 30 суток. В процессе эксперимента гаммарусов кормили измельченными бурыми водорослями и сушеными дафниями.

Результаты обрабатывали статистически, вычисляли среднее значение, ошибку среднего. Сравнение результатов проводили с помощью критерия Стьюдента при уровне значимости 0,05. Корреляционный анализ между показателями выживаемости амфипод, концентрацией токсикантов и периодами анализа показателей выживаемости осуществляли с помощью компьютерной программы CURFVIT.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показали выраженное токсическое действие препаратов при разных концентрациях, о чем свидетельствует повышенная гибель амфипод по сравнению с контролем (табл. 1 и 2).

Из представленных данных по влиянию препарата 1 на амфипод можно видеть, что на 10-е сутки эксперимента существенные различия с контролем обнаружены при концентрации 0,01 и 0,05 мг/л. На 20-е сутки такой же эффект отмечен при концентрациях 0,25 и 1 мг/л. На 25 день эксперимента и к его окончанию достоверное снижение выживаемости ракообразных установлено при концентрации 0,25 мг/л и выше. Отсюда можно заключить, что минимальной недействующей концентрацией препарата 1 является 0,05 мг/л, а пороговой 0,1 мг/л. Препарат 2 оказался менее токсичным для амфипод, что следует из данных, приведенных в таблице 2.

Спустя 10 суток после начала эксперимента не обнаружено различий между опытными и контрольной группами. На 20-е сутки число погибших амфипод, инкубируемых в растворах токсиканта с концентрацией 0,1 и 0,25 мг/л, существенно превышало эти показатели в контроле. Такая же тенденция была отмечена и в конце эксперимента.

Таким образом, результаты исследований позволили выявить различную токсичность двух исследуемых буровых растворов на амфипод. В обоих случаях отмечена возрастающая гибель ракообразных в течение тестируемого периода времени как в контроле, так и в опытных группах с различной концентрацией токсиканта. При этом установлена высокая корреляция между параметрами выживаемости ракообразных и временем эксперимента (табл. 3), что свидетельствует о наличии прямой зависимости между этими параметрами.

Таблица 1

Влияние препарата 1 при концентрации 0,05–1 мг/л на выживаемость амфипод

Концентрация, мг/л	Выживаемость, %									
	Сутки опыта									
	1-е		10-е		20-е		25-е		30-е	
	M ± m	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	
Контроль	100,0 ± 0,0	86,7 ± 7,2		60,0 ± 4,7		60,0 ± 4,7		60,0 ± 4,7		
0,05 мг/л	100,0 ± 0,0	86,7 ± 7,2	н/д	53,3 ± 2,7	н/д	53,3 ± 2,7	н/д	46,7 ± 2,7	н/д	
0,1 мг/л	100,0 ± 0,0	60,0 ± 0,0	<0,01	50,0 ± 8,2	н/д	50,0 ± 8,2	н/д	43,3 ± 5,4	н/д	
0,25 мг/л	100,0 ± 0,0	63,3 ± 5,4	н/д	40,0 ± 4,7	<0,05	36,7 ± 2,7	<0,01	33,3 ± 2,7	<0,01	
0,5 мг/л	100,0 ± 0,0	63,3 ± 2,7	<0,01	50,0 ± 0,0	н/д	36,7 ± 5,4	<0,05	20,0 ± 0,0	<0,001	
1 мг/л	100,0 ± 0,0	53,3 ± 9,8	н/д	26,7 ± 7,2	<0,05	20,0 ± 8,2	<0,01	13,3 ± 5,4	<0,001	

Примечание к таблице. Здесь и далее н/д – различие не достоверно

Таблица 2

Влияние препарата 2 в концентрации 0,05–1 мг/л на выживаемость амфипод

Концентрация, мг/л	Выживаемость, %									
	Сутки опыта									
	1-е		10-е		20-е		25-е		30-е	
	M ± m	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	
Контроль	100,0 ± 0,0	80,0 ± 8,2		70,0 ± 9,4		60,0 ± 12,6		40,0 ± 4,7		
0,05 мг/л	100,0 ± 0,0	56,7 ± 0,9	н/д	43,3 ± 5,4	н/д	30,0 ± 0,0	н/д	30,0 ± 0,0	н/д	
0,1 мг/л	100,0 ± 0,0	76,7 ± 5,4	н/д	30,0 ± 0,0	<0,01	40,0 ± 8,2	н/д	13,3 ± 5,4	<0,01	
0,25 мг/л	100,0 ± 0,0	53,3 ± 4,4	н/д	40,0 ± 0,0	<0,01	33,3 ± 5,4	н/д	20,0 ± 4,7	<0,05	
0,5 мг/л	100,0 ± 0,0	70,0 ± 8,2	н/д	56,7 ± 2,7	н/д	40,0 ± 4,7	н/д	26,7 ± 2,7	н/д	
1 мг/л	100,0 ± 0,0	66,7 ± 9,8	н/д	50,0 ± 4,7	н/д	43,3 ± 2,7	н/д	26,7 ± 2,7	н/д	

В меньшей степени зависимость выражена между концентрацией препарата и выживаемостью амфипод, что можно видеть на основании данных, представленных в таблице 4. При этом если для препарата 1 зависимость между концентрацией и выживаемостью гаммарусов выражена достаточно четко и существует высокая корреляция, которая особенно проявлялась на последних этапах эксперимента, то для препарата 2 такой зависимости не установлено. Полученные данные могут отражать разные механизмы влияния буровых растворов на морских амфипод и их адаптационные возможности, что следует учитывать при проведении токсикологических экспериментов.

Амфиподы широко распространены в прибрежной части морей и океанов, где играют важную роль, поскольку входят в пищевые цепи морских рыб и беспозвоночных (Гринцов, 2022). Они применяются в качестве тест-объектов в токсикологических исследованиях, в которых оценивают физиологическое состояние и поведенческие реакции ракообразных, под действием загрязнителей в острых и хронических опытах (Zauke et al., 2003). Так например, при действии различных концентраций ионов серебра у *Gammarus fossarum* было показано снижение выживаемости, изменение метаболизма и локомоторной функции, ингибирование ферментов антиоксидантной защиты и возрастание перекисного окисления липидов, обусловленное затратами энергии на осморегуляцию и детоксикацию (Arc Funck et al., 2013). Сходные результаты были получены при анализе токсического действия ионов кадмия на *Gammarus pulex*: по сравнению с контролем смертность ракообразных, экспонированных в

растворах с токсикантом, возрастала, концентрация ионов кальция в гемолимфе падала, а активность Na^+/K^+ -АТФ-азы значительно возрастала. Пищевое поведение, двигательная активность, локомоторные функции также снижались (Felten et al., 2008)

Таблица 3

Корреляции между значениями выживаемости амфипод и длительностью эксперимента (сутки)

Концентрация, мг/л	Корреляции			
	Препарат 1		Препарат 2	
	R^2	r	R^2	r
Контроль	0,90	0,62	0,95	0,94
0,05 мг/л	0,94	0,93	0,90	0,87
0,1 мг/л	0,82	0,77	0,94	0,91
0,25 мг/л	0,92	0,89	0,91	0,88
0,5 мг/л	0,97	0,96	0,98	0,97
1 мг/л	0,93	0,31	0,94	0,93

Примечание к таблице. R^2 – коэффициент детерминации; r – коэффициент корреляции.

Таблица 4

Корреляции между значениями выживаемости амфипод и концентрацией препаратов в течение 30 суток

Период, сутки	Корреляции			
	Препарат 1		Препарат 2	
	R^2	r	R^2	r
10	0,53	0,44	0,01	-0,23
20	0,75	0,68	0,10	-0,24
25	0,89	0,87	0,89	0,83
30	0,83	0,79	0,01	-0,24

Примечание к таблице: R^2 – коэффициент детерминации; r – коэффициент корреляции.

При изучении влияния препаратов ибупрофена и флуоксетина на двигательную активность *G. pulex* была установлена зависимость от концентрации ксенобиотиков: при увеличении содержания фармпрепаратов происходило снижение активности амфипод (De Lange et al., 2006). Таким образом, амфиподы реагируют на токсичность среды, что проявляется в их физиологических, поведенческих реакциях и показателях выживаемости/смертности, которые могут быть использованы для проведения экотоксикологического анализа водных объектов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о токсичности тестируемых буровых растворов, которые даже в относительно небольших концентрациях могут привести к гибели амфипод, спровоцировать другие негативные эффекты для бентосных сообществ и таким образом существенно их модифицировать и привести к гибели некоторых компонентов. Определение токсичности буровых растворов на морских гидробионтах позволит выявить наиболее безопасные препараты для морских сообществ, а также их допустимые концентрации для морской среды, что важно при установлении ПДК.

Список литературы

- Вода. Методы определения токсичности по выживаемости морских ракообразных. ГОСТ Р 53886-2010 (ИСО 14669:1999)
- Гинцов В. А. Таксономическое разнообразие Amphipoda (Crustacea) Черного и Азовского морей // Морской биологический журнал – 2022. – Т. 7, № 1. – С. 34–45
- Методические указания по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов ПДК вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения», утв. приказом Росрыболовства № 695 от 04.08.2009 г.
- Патин С. А. Морской нефтегазовый комплекс: факторы экологического риска // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2015. – № 4. – С. 5–14.
- Antia M., Ndidiamaka A., Ezejiolor A., Obasi C. N., Orisakwe O. E., Environmental and Public health effects of Spent Drilling Fluid: an updated systematic review // Journal of Hazardous Materials Advances. – 2022. – 100120
- Arce Funck J., Danger M., Gismondi E., Cossu-Leguille C., Guérol F., Felten V. Behavioural and physiological responses of *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda) exposed to silver // Aquatic Toxicology. – 2013. – Vol. 142–143. – P. 73–80
- Beiraoa J., Baillonc L., Litta, M. A. Langlois V. S., Craig F., Purchase C. Impact of crude oil and the dispersant Corexit™ EC9500A on capelin (*Mallotus villosus*) embryo development // Marine Environmental Research. – 2019. – Vol. 147. – P. 90–100
- Beyer J., Trannum H. C., Bakke T., Hodson P. V., Tracy K., Collier T. K. Environmental effects of the Deepwater Horizon oil spill: A review // Marine Pollution. Bulletin. – 2016. – Vol. 110, is. 1. – P. 28–51.
- De Lange H. J., Noordoven W., Murk A. J., Lurling M., Peeters E. T. H. M. Behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) to low concentrations of pharmaceuticals // Aquatic Toxicology. – 2006. – Vol. 78. – P. 209–216.
- Felten V., Charmantier G., Mons R., Geffard A., P. Rousselle P., Coquery M., Garric J., Geffard O. Physiological and behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda) exposed to cadmium // Aquatic Toxicology. – 2008. – Vol. 86. – P. 413–425
- Hansen B. H., Farkas J., Nordtug T., Peter V., Hodson P. V., Tracy K., Collier T. K. Does microbial biodegradation of water-soluble components of oil reduce the toxicity to early stages of fish? // Environmental Science and Technology. – 2018. – Vol. 162. – P. 59–62.
- Pereira L. B., Sad Eustáquio C. M. S., Castro V. R., Filgueiras P. R., Lacerda V. Environmental impacts related to drilling fluid waste and treatment methods: A critical review // Fuel. – 2022. – Vol. 310. – Part B. – 122301.
- Rudneva I. I. Biomarkers for stress in fish embryos and larvae. CRC Press. Taylor & Francis Group. – 2014. – 206 pp.
- Rudneva I.I. Use of fish embryo biomarkers for the evaluation of mazut toxicity in marine environment // International Aquatic Research. – 2019. – Vol. 11. – P. 147–157
- Samuelsen A., Daewe U., Wettre C. Risk of oil contamination of fish eggs and larvae under different oceanic and weather conditions ICES // Journal of Marine Science. – 2019. – Vol. 76, is. 6. – P. 1902–1916.
- Zauke G.-P., Clason B., Savinov V. M., Savinova T. Heavy metals of inshore Benthic invertebrates from the Barents Sea // Science of the Total Environment. – 2003. – Vol. 306. – P. 99–110.

Rudneva I. I., Medaynkina M. V., Shaida V. G. Toxic evaluation of drilling fluids on marine Amphipoda // Ekosistemy. 2023. Iss. 34. P. 140–144.

The intensive development of oil-gas complex in shelf zone of the seas and ocean is connected with the application of the specific chemicals, used in the processes of drilling. These components contain various chemicals, several of which are toxic and influence negative effects both aquatic organisms and public health of the people, using them in the food. Therefore, it is important to evaluate the toxicity of drilling fluids and their effects on the aquatic organisms inhabiting in the coastal areas of the seas and ocean. The aim of the present study was to analyze the influence of two kinds of drilling fluids on marine benthic amphipoda *Chaetogammarus olivii* (H. Milne Edwards, 1830, Amphipoda) in the concentrations 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 and 1 mg/l during the period of 30 days. The effect of toxicants on the crustaceans evaluate for their mortality via every 10 days during the month. The obtained results demonstrated different toxicity of tested chemicals. The drilling fluid 1 demonstrated the toxic effect at 10-th day of the exposition at the concentration of 0.01 и 0.05 mg/l, at 20-th day. The same effect was observed at the concentration of 0.25 и 1 mg/l. At the end of the experiment the significant decrease of the survival of amphipoda was indicated at the concentration of 0.25 mg/l and higher. The toxicity of drilling fluid 2 was less for crustacean, because from 10 days after the beginning of the exposition no differences between experimental and control groups were observed. At 20-th day he number of the mortality at the concentration 0.1 and 0.25 mg/l was significantly increased as compared with the control, this tendency was kept at the of the experiment. The results obtained demonstrated the toxicity of the tested drilling fluids for marine crustacean, which can use as test-organisms in ecotoxicological studies.

Key words: drilling fluids, amphipoda *Chaetogammarus olivii*, toxicity, mortality.

Поступила в редакцию 03.12.22
Принята к печати 30.12.22.