

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК: 628.394.6:57/.59

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА MAX PLEX ДЛЯ ГИДРОБИОНТОВ

А.С. Федотов

Федеральное агентство по рыболовству
Федеральное государственное унитарное
предприятие
Всероссийский научно-
исследовательский институт рыбного
хозяйства и океанографии (ФГУП
«ВНИРО»), 107140, Москва, Российская
Федерация

В настоящее время проводятся крупномасштабные разработки нефти и газа на шельфе морей России. В связи с этим необходимо знать токсичность применяемого препарата MAX PLEX на буровых платформах, поскольку существует реальная возможность попадания остаточных количеств его в водоемы, что может нанести ущерб водным биоресурсам. Исследование токсичности препарата проведено в соответствии с «Руководством по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов». Оценка токсичности препарата проведена по определению медианных летальных концентраций (EC_{50} и LK_{50}), характеризующих изменение выживаемости (гибели) стандартных морских тест-организмов (фитопланктона – *Phaeodactylum tricornerutum Bohin*; зоопланктона – *Artemia salina* и рыб, односуточных мальков – *Poecilia reticulata Peters*) на 50% за определенное время – 72; 48 и 96 часов ($EC_{50}/72$ ч и $LK_{50}/48$ и 96 ч). По результатам оценки токсичности препарата для гидробионтов установлен наиболее чувствительный тест-объект – *Phaeodactylum tricornerutum Bohin*, для которого $EC_{50}/72$ ч = 8,3 мг/л. Согласно классификации Л.А. Лесникова и К.К. Врочинского по степени острой токсичности для водных организмов препарат MAX PLEX относится к среднетоксичным веществам (LK_{50} для фитопланктона за 72 ч составляет 8,3 мг/л).

Ключевые слова: препарат, фитопланктон, зоопланктон, рыба, токсичность.

Введение. В настоящее время проводятся крупномасштабные разработки нефти и газа на шельфе морей России, особенно в районе северных и дальневосточных морей, а также Северном Каспии. В связи с этим необходимо знать как токсичность применяемых буровых растворов и их компонентов, так и токсичность веществ, используемых на платформах для различных технологических целей, поскольку существует реальная возможность попадания их в водоемы, что может нанести определенный ущерб водным биоресурсам. Поэтому необходима оценка токсичности применяемых химических веществ на водоемах,

путем определения медианных летальных концентраций (LK_{50}), для сохранения водной экосистемы.

Актуальность: впервые дана оценка токсичности препарата MAX PLEX для водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение.

Цель работы: оценка токсичности препарата MAX PLEX для стандартных морских тест-объектов.

Задачи: оценка токсичности препарата для фитопланктонных организмов – *Phaeodactylum tricornerutum Bohin*; оценка токсичности препарата для зоопланктонных организмов – *Artemia salina*;

оценка токсичности препарата для рыб, односуступчатых организмов (мальков) – *Poecilia reticulata Peters*.

Материал и методы. Препарат MAX PLEX предназначен для применения в нефтедобывающей промышленности и представляет собой порошок темного цвета без запаха [3].

Исследование токсичности препарата проводили в соответствии с «Руководством по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов» (утверждено МПР России, 27 апреля 2001 г.), изд. РЭФИ, НИА-Природа, М., 2002 г [5]. Руководство включено в область аккредитации лаборатории.

Все исследования проведены в лабораторных условиях ВНИРО на искусственной морской воде соленостью 20‰.

Для исследований на фитопланктоне в качестве стандартного морского тест-объекта использовали альгологически чистую культуру морских одноклеточных диатомовых водорослей – *Phaeodactylum tricorutum Bohin*. В опыт брали культуру в экспоненциальной фазе роста. Начальная плотность клеток в эксперименте 20 000 тыс. кл./мл. Длительность опыта 3 суток (72 ч), повторность трехкратная, освещение 3000 лк,

температура 20±2°C, 12-часовой световой режим в климатостате.

Для определения пригодности культуры одноклеточных водорослей для биотестирования определяли ЛК₅₀ (96 ч) стандартного вещества K₂Cr₂O₇ для *Ph. tricorutum*. ЛК₅₀ K₂Cr₂O₇ равна 5,8 мг/л, что укладывается в диапазон реагирования для данного вида водорослей (4,8–6,7 мг/л).

На фитопланктонных организмах в течение трех суток исследовали изменение флуоресценции клеток водорослей при различных концентрациях препарата. Определяли полуэффективную концентрацию препарата (ЭК₅₀ за 72ч) [1]. Полуэффективную концентрацию (ЭК₅₀) препарата вызывает изменение параметров жизнедеятельности фитопланктонных организмов (изменение численности клеток, изменение флуоресценции хлорофилла клеток и др.) на 50% за определенное время. Показатели жизнедеятельности микроводорослей оценивали экспресс-методом по изменению флуоресценции клеток водорослей на приборе «Флюорат 02-3М». Определение изменения численности клеток проводили в камере Горяева под микроскопом. Численность живых клеток водорослей коррелировала с показаниями флуоресценции водорослей. В экс-

Таблица 1

Показатели жизнедеятельности *Phaeodactylum tricorutum Bohin* (изменение флуоресценции хлорофилла клеток) в различных концентрациях препарата MAX PLEX, экспозиция 72 ч

Концентрация, мг/л	Сутки опыта		
	1	2	3
Контроль	0,25	0,37	0,80
0,5	0,25	0,37	0,80
1,0	0,24	0,33	0,72
5,0	0,22	0,28	0,62
10,0	0,16	0,16	0,32
50,0	0,05	0,05	0,08
100,0	0,02	0,01	-
% от контроля			
Контроль	100	100	100
0,5	100	100	100
1,0	96	89	90
5,0	89	76	77
10,0	63	43	40
50,0	21	14	10
100,0	8	2	-

перименте замеры флуоресценции клеток проводили ежедневно.

Для исследований на зоопланктонных организмах использовали стандартный морской тест-объект – эвригалинные жаброногие рачки *Artemia salina*. В опыт брали односуточных рачков, длительность эксперимента – 2 и 4 суток (48 и 96 ч). В остром эксперименте рачков не кормили.

Для определения пригодности культуры артемий для биотестирования определяли ЛК₅₀ (72 ч) стандартного вещества K₂Cr₂O₇ для артемий. ЛК₅₀ равна 7,1 мг/л, что укладывается в диапазон реагирования артемий (6,9–8,0 мг/л) на стандартное вещество.

Определяли полулетальные концентрации (ЛК₅₀/48 и 96ч) препарата [4]. Полулетальные концентрации (ЛК₅₀) вызывают изменение выживаемости зоопланктонных организмов (гибель) на 50% за 48 и 96 ч.

Для проведения ихтиотоксикологических исследований используется широко распространенная аквариумная живородящая рыбка – *Poecilia reticulata* Peters – гуппи. Гуппи выдерживают значительные колебания солености, в природе

встречаются как в пресных, так и осолоненных водах.

В опыте использовали высокочувствительных односуточных мальков данных рыб. Исследования препарата проводили в аквариальной, с использованием рассеянного света и естественного светового периода. Длительность биотестирования водной вытяжки составляла 4 суток (96 ч). Во время биотестирования рыб не кормили. Температура анализируемой пробы 20–22°C, концентрация растворенного кислорода 8,6 мг/дм³. Соотношение воды и ихтиомассы составляло менее 1,5 г в литре, на каждую концентрацию приходилось по 10 экземпляров рыбок в опытах и контроле.

Физиологическую активность рыб проверяли по стандартному веществу – калию двухромовокислороду. ЛК₅₀ K₂Cr₂O₇ за 24 ч составила 127,0 мг/дм³ (что укладывается в диапазон требуемых концентраций 106–175 мг/дм³).

Определяли полулетальную концентрацию (ЛК₅₀/96 ч) препарата [4]. Полулетальные концентрации (ЛК₅₀) вызывают изменение выживаемости односуточных мальков рыб (гибель) на 50% за 96 ч.

Таблица 2

Динамика выживаемости *Artemia salina* в различных концентрациях препарата MAX PLEX, экспозиция 96 ч, n = 20

Концентрация мг/л	Сутки опыта			
	1	2	3	4
Контроль	20	20	20	20
0,05	20	20	20	20
0,1	20	20	20	20
1,0	20	20	20	19
5,0	20	20	19	16
10,0	20	20	18	14
50,0	20	20	15	9
100,0	20	20	8	0
% от контроля				
Контроль	100	100	100	100
0,05	100	100	100	100
0,1	100	100	100	100
1,0	100	100	100	95
5,0	100	100	95	80
10,0	100	100	90	70
50,0	100	100	75	45
100,0	100	100	40	0

Все исследования проводили на фоне контроля (без внесения препарата).

Степень острой токсичности препарата для гидробионтов оценивали согласно классификации Лесникова Л.А. и Врочинского К.К. [2].

Результаты и обсуждение. Согласно представленным в таблице 1 данным видно, что концентрация препарата MAX PLEX 0,5 мг/л не оказывает токсического влияния на жизнедеятельность фитопланктона. Концентрации 1,0–100,0 статистически достоверно угнетают развитие фитопланктона, снижая уровень флуоресценции от 10 до 100%. Показатели флуоресценции водорослей в концентрации 0,5 мг/л находились на уровне контрольных величин на протяжении всех суток исследования.

Расчетная полуэффективная концентрация препарата MAX PLEX за трое суток ($ЭК_{50}/72ч$) составила 8,3 мг/л.

Из представленных в таблице 2 данных видно, что в концентрациях препарата MAX PLEX 0,05 и 0,1 мг/л не отмечено гибели артемий в течение 4 суток. Концентрация 1,0 мг/л вызывает единичную статистически недостоверную гибель рач-

ков (5%). Максимальная статистически достоверная гибель организмов зарегистрирована в концентрациях препарата 5,0–100,0 мг/л, что составило 20–100%.

Расчетные полуметальные концентрации препарата MAX PLEX для артемий за 2 и 4 суток ($ЛК_{50}/48$ и 96 ч) составили соответственно >100,0 и 45,5 мг/л.

Из представленных в таблице 3 данных видно, что концентрация препарата MAX PLEX 500,0 мг/л на 4-е сутки опыта вызывает 100% гибель мальков гуппи. В концентрациях 5,0–100,0 мг/л на 4-е сутки выживают соответственно 83,3–33,3% мальков рыб по сравнению с контролем. В концентрации 1,0 мг/л гибель односуточных мальков не отмечена на протяжении всего эксперимента.

Расчетная полуметальная концентрация препарата MAX PLEX за 96 ч ($ЛК_{50}/96ч$) для мальков рыб равна 39,5 мг/л.

Представленные в таблице 4 обобщенные данные свидетельствуют о том, что для препарата MAX PLEX наиболее слабым тест-организмом из трех исследованных (фито-, зоопланктон, ры-

Таблица 3

Динамика выживаемости (%) односуточных *Poecilia reticulata* Peters в различных концентрациях препарата MAX PLEX, экспозиция 96 ч, n = 30

Концентрация, мг/л	Сутки опыта			
	1	2	3	4
Контроль	30	30	30	30
1,0	30	30	30	30
5,0	30	30	28	25
10,0	30	29	25	22
50,0	28	26	22	19
100,0	24	21	17	10
500,0	21	16	6	0
% от контроля				
Контроль	100	100	100	0
1,0	100	100	100	100
5,0	100	100	93,3	83,3
10,0	100	96,7	83,3	73,3
50,0	93,3	86,7	73,3	63,3
100,0	80,0	70,0	56,7	33,3
500,0	70,0	53,3	20,0	0

**Обобщенные данные результатов исследования токсичности препарата
MAX PLEX для гидробионтов**

Название препарата	Фитопланктон (ЭК ₅₀ /72 ч), мг/л	Зоопланктон ЛК ₅₀ /48 ч/96 ч, мг/л	Рыба (односуточные группы), ЛК ₅₀ /96 ч, мг/л	Слабое звено
MAX PLEX	8,3	>100,0/45,5*	39,5	Фитопланктон (ЭК ₅₀ /72 ч 8,3 мг/л)

Примечание: *числитель ЛК₅₀/48 ч, знаменатель ЛК₅₀/96 ч

бы) являются фитопланктонные организмы – *Phaeodactylum tricornutum Bohin*, для которых получена наименьшая полумлетальная концентрация 8,3 мг/л.

Заключение. Согласно классификации Л.А. Лесникова и К.К. Врочинского [5] по степени острой токсичности для водных организмов препарат MAX PLEX оценивается как среднетоксичный (ЛК₅₀ для фитопланктона за 72

ч составляет 8,3 мг/л, что соответствует интервалу концентраций от 5,0 до 50,0 мг/л).

В таблице 4 дополнительно внесена рассчитанная по экспериментальным данным для зоопланктона ЛК₅₀/48 ч (учитывая требования Федерального закона от 21.06.1997 г 116-ФЗ «О промышленной безопасности опасных производственных объектов (с изменениями от 07.08.2000 г., 10.01.2003 г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Рига: Изд. АН Латвийской ССР, 1963.
2. Методические указания по

рыбохозяйственной оценке пестицидов. – Л: ГосНИОРХ, 1973.
3. Паспорт безопасности вещества (материала)/ MAX PLEX. – М: Компания «Бейкер-Хьюз», 2009.

4. Прозоровский В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности. В кн.: Фармакология и токсикология. – М.; 1962.
5. Руководство по определению

методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов: Утв. МПР России 27 апреля 2001 г. – М.; РЭФИ, НИИ-Природа, 2002 г.

REFERENCES:

1. Belenky M.L. Elements of quantitative assessment of pharmacological effect. – Riga: publishing AN Latviskoi SSR; 1963 (in Russian).
2. Guidelines for fisheries assessment

of pesticides. – L: GosNIORH, 1973 (in Russian).
3. Material Safety Data Sheet MAX PLEX. – М: «Baker Hughes» company, 2009.

4. Prozorovsky V.B. Using the least squares method for probit analysis of mortality curves. – Pharmacology and toxicology. М., 1962 (in Russian).
5. Guidance on the determination

method of toxicity biotesting water, bottom sediments, pollutants and drilling muds: approved by the Russian Ministry 27.04.2001. – М., RAFI, NIA of Natural Resources, 2002 (in Russian).

A.S. Fedotov

ASSESSMENT OF THE TOXICITY OF SUBSTANCE MAX PLEX TO HYDROBIONTS

Federal State Unitary Enterprise “Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO)”, Federal Agency for Fisheries, 107140, Moscow, Russian Federation

At present a large-scale oil and gas development work is carried out on the Russian sea shelf. Therefore it is necessary to know toxicity of the preparation MAX PLEX used on drilling platforms as there is a real possibility that its residual quantity could get in the soil posing harm to biological water resources. The preparation toxicity was assessed in accordance with «The Guidelines for determining toxicity of water, bottom deposits, pollutants, drilling fluid fluids using a biotesting method». Toxicity assessment was based on determining mean lethal concentrations EC₅₀ and LC₅₀ characterizing changes in survival (death) of standard sea test-organisms (*Phytoplankton Phaeodactylum tricornutum Bohin*; zooplankton- *Aryemia salina*, fishes, one-day old fishes- *Poecillia reticulata* Peters) by 50% for a determined time period- 72, 48 and 96 hours (EC₅₀/72h and LC₅₀/48 and 96 h). Based on toxicity assessment of the preparation for hydrobionts, it was established that the most sensitive test-object is *Phaeodactylum tricornutum Bohin* having EC₅₀/72h= 8.3 mg/l. According to the classification proposed by L.A. Lesnikov and K.K. Vrochinskiy, based on grading of acute toxicity to hydrobionts, the preparation MAX PLEX is classified as moderately toxic (for phytoplankton LC₅₀ is 8.3 mg/l during 72h).

Key words: preparation, phytoplankton, zooplankton, fish, toxicity.

Материал поступил в редакцию 11.06.2014 г.