

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ДИСПЕРГЕНТА НА ФИТОПЛАНКТОН *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM*

ASSESSING THE EFFECT OF DISPERSANT ON PHYTOPLANKTON OF *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM*

Аннотация:

Проведена оценка влияния диспергента на морскую диатомовую водоросль *Phaeodactylum tricornutum*. В рамках исследования была создана экспериментальная схема, включающая подготовку культур микроорганизмов, обработку их различными концентрациями диспергента и последующий мониторинг показателей роста, фотосинтетической активности и морфологических изменений. Использование спектрофотометрических методов, микроскопии и анализа фотосинтетической эффективности позволило определить степень токсичности диспергента и его влияние на физиологические процессы в клетках *Phaeodactylum tricornutum*. Эксперимент показал отсутствие отрицательного влияния диспергента в концентрациях до 5,0 мг/дм³ и возможный токсичный эффект при 10,0 мг/дм³. Полученные результаты способствуют более глубокому пониманию экологических рисков применения диспергентов в водных экосистемах и позволяют разработать рекомендации по их безопасному использованию с учетом воздействия на фитопланктонные сообщества.

Ключевые слова: диспергент, фитопланктон, токсичность, фотосинтетическая активность, дозировка.

Abstract:

The effect of the dispersant on the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* has been evaluated. As part of the study, an experimental scheme was created that includes the preparation of microbial cultures, their treatment with various concentrations of dispersant, and subsequent monitoring of growth, photosynthetic activity, and morphological changes. The use of spectrophotometric methods, microscopy, and photosynthetic efficiency analysis made it possible to determine the degree of toxicity of the dispersant and its effect on physiological processes in *Phaeodactylum tricornutum* cells. The experiment showed that there was no negative effect of the dispersant at concentrations up to 5.0 mg/dm³ and a possible stimulating effect at 10.0 mg/dm³. The results obtained contribute to a deeper understanding of the environmental risks of using dispersants in aquatic ecosystems and allow us to

develop recommendations for their safe use, taking into account the impact on phytoplankton communities.

Keywords: dispersant, phytoplankton, toxicity, photosynthetic activity, dosage.

Фитопланктон — основной компонент морской биоты, от развития и состояния которого зависят все остальные звенья морских экосистем. Диатомовые водоросли вносят существенный вклад в функционирование водной системы: в частности, они «отвечают» приблизительно за 40 % производства органического углерода в океанах, а их биомасса является самой большой среди микроводорослей. Развиваясь в приповерхностном слое воды, организмы фитопланктона наиболее уязвимы к нефтяному загрязнению. Изменения в темпах роста диатомовых водорослей, вызванные загрязняющими веществами, могут нарушить круговорот питательных веществ, вызвать локальное истощение пищевых ресурсов как для планктонных, так и для бентосных трофических систем. Поскольку фитопланктон находится в основе морской пищевой цепи, он может служить вектором для передачи нефти на более высокие трофические уровни. Как правило, большинство исследований, связанных с изучением воздействия нефтяных загрязнений, проводятся с использованием фитопланктона, так как численность его популяций в природных условиях обычно довольно динамична. Тем не менее пока что существует сравнительно мало исследований о влиянии нефти на фитопланктон.

Диспергенты нефти — универсальный инструмент устранения разливов нефти, обладающий значительными преимуществами по сравнению с механическими и биологическими методами очистки нефтяных загрязнений. Однако влияние самих диспергентов на морские организмы еще недостаточно изучено¹¹.

Большинство современных диспергентов состоят из поверхностно-активных веществ (ПАВ) и различных добавок, улучшающих их свойства. Взаимодействуя с нефтью, диспергенты разбивают пленку на отдельные капли, которые перемешиваются в воде, а затем оседают на дно водоема, где и подвергаются дальнейшей деградации. Диспергенты состоят обычно из одного и более ПАВ, но могут быть также газообразными веществами.

¹¹ Метелев В.В., Канаев А.И., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология. М.: «Колос», 1971. 247 с.; Ковалев Н.Н., Лескова С.Е., Михеев Е.В., Позднякова Ю.М., Есипенко Р.В. Культуральные и биохимические показатели микроводорослей *Phaeodactylum tricornutum* и *Tetraselmis suecica* в накопительных культурах // Вестник ТГТУ. 2020. № 53-54. С. 65—70.

Диспергент наносится на поверхность разлива нефти. Образованная диспергентом пленка нефти вследствие снижения поверхностного натяжения на границе раздела фаз эффективно рассеивается в толще воды в виде мелких капель за счет энергии перемешивания, создаваемой естественным образом волнами и течением или искусственно с помощью работы гребных винтов плавательных средств¹². В результате диспергированная нефть становится доступна для последующего биоразложения — переработки ее природными микроорганизмами. Для эффективного рассеивания капли диспергированной нефти должны иметь размер менее 70 мкм. Эффективность диспергента оценивается с использованием различных методик¹³.

Использование диспергентов признано в мировой практике экологически приемлемым и весьма эффективным способом быстрой ликвидации аварийных разливов нефти. Диспергент должен отвечать следующим требованиям: устойчивость при нанесении на поверхность разлива, совместимость с водой акватории (отсутствие осадкообразования при смешивании), низкая токсичность. Несмотря на имеющиеся известные сочетания ПАВ и растворителей, представляющие интерес для исследований, разработка диспергента, который отвечает всему комплексу требований, остается сложной, но возможной задачей.

Диспергенты классифицируются по поколениям и типам, отражая эволюцию технологий ликвидации разливов нефти. Первое поколение диспергентов, разработанное в 1960-х гг., по составу напоминало промышленные очистители и обезжириватели и характеризовалось высокой токсичностью для морской среды. Дозировка диспергентов 1-го типа относительно высока и составляет от 1:1 до 1:3 (диспергент: нефть). В настоящее время использование их ограничено или запрещено во многих странах ввиду негативного воздействия на экосистему. Диспергенты третьего поколения представляют собой смесь двух или трех ПАВ с гликолем и растворителем на основе дистиллята легкой нефти. В качестве ПАВ чаще всего используются неионные (например, сложные эфиры жирных кислот и этоксилированные сложные эфиры жирных кислот) и анионные (например, алкилсульфаты) вещества. Концентрация ПАВ в растворителе варьируется от 25 % до 65 %, что, как правило, выше, чем в диспергентах 1-го типа. Диспергенты 3-го типа используются в неразбавленном виде и разработаны преимуще-

¹² Разливы нефти: проблемы, связанные с ликвидацией последствий разливов нефти в Арктических морях / Всемирный фонд дикой природы (WWF). Осло: WWF, 2008. 28 с.

¹³ Диспергент. [Электронный ресурс]: <https://neftegaz.ru/tech-library/ngk/148048-dispersent/>

ственно для распыления с самолетов, хотя могут применяться и с судов. Дозировка варьируется от 1:5 до 1:50 (соотношение чистого диспергента к нефти), при этом оптимальная дозировка определяется на основе результатов испытаний в ходе ликвидации аварийной ситуации. Диспергенты третьего поколения 3-го типа являются наиболее широко используемыми на сегодняшний день¹⁴.

Диспергенты нефти могут как положительно, так и отрицательно влиять на водные организмы, в частности, на фитопланктон. Положительным действием диспергента является ускорение биоразложения нефти и уменьшение ее токсического влияния на водные организмы; отрицательное действие проявляется в снижении производства фитопланктона и изменении структуры его сообщества. Отрицательных воздействий диспергента на фитопланктон больше, чем положительных, поэтому предлагаются рекомендации для снижения его негативного влияния. В целом применение диспергентов может быть оправданным в ситуациях, когда другие методы борьбы с разливами нефти неэффективны или невозможны. Однако необходимо все же минимизировать их токсическое воздействие на фитопланктон и другие компоненты экосистемы.

Материалы и методы исследования. Изучаемый диспергент нефти предназначен для рассеивания нефтяных загрязнений в воде, однако вызывает опасения из-за потенциального негативного воздействия на водные экосистемы. Данный диспергент представляет собой многокомпонентную смесь поверхностно-активных веществ и растворителей. Препарат содержит 25—40 % неионных и 15—35 % анионных ПАВ (остальное — органические растворители). В состав реагента входят следующие основные компоненты: этоксилированный сорбитанмоноолеат, сорбитанмоноолеат, натрия 1,4-бис(2-этилгексокси)-1,4-диоксобутан-2-сульфонат (аналог диоктилсульфосукцината, анионный ПАВ), пропиленгликоль (органический растворитель), жидкий нефтяной парафин (углеводородный растворитель), тетраборат натрия декагидрат (бура) (стабилизатор). Производство и применение данного диспергента нефти регламентируются техническими условиями ТУ 20.41.32-001-23499060-2023. Специальных общепромышленных ГОСТ для конкретного состава используемого диспергента не существует — в документах обычно указывается либо номер ТУ, либо описательное название («диспергент нефтепродуктов на основе ПАВ»). В международном контексте аналогичные препараты подпадают под стандарты ISO по поверхност-

¹⁴ Ликвидация аварийных разливов нефти. Учебное пособие. М.: Изд-во МГУ, 2022. 120 с.; Применение диспергентов для обработки нефтяных разливов. Методические рекомендации. М.: ОСПРИ, 2013. 45 с.

но-активным веществам для ликвидации нефтеразливов (например, ISO 2885) или тестовые методы ASTM (например, ASTM F2059), но на практике достаточно ссылки на отраслевую терминологию и технические условия.

Среди множества видов диатомовых микроводорослей лишь немногие культивируют в промышленных масштабах. Для получения из них биологически активных веществ необходим такой вид, который обладает высокой скоростью роста и продуктивностью (выработкой нужных биохимических компонентов). Этим требованиям отвечает морская диатомовая водоросль *Phaeodactylum tricornutum* (Рис. 1). Ее клетки содержат каротиноиды, полиненасыщенные жирные кислоты; данный вид используется в кормах для животных и аквакультуре. В последнее время *Ph. tricornutum* был включен в число потенциальных объектов для производства биодизельного топлива¹⁵.

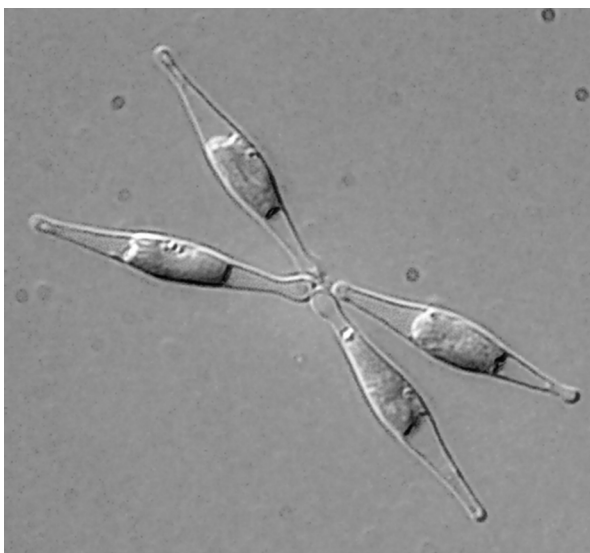


Рис. 1. Микроводоросль *Phaeodactylum tricornutum*.

¹⁵ Ковалев Н.Н., Лескова С.Е., Михеев Е.В., Позднякова Ю.М., Есипенко Р.В. Культуральные и биохимические показатели микроводорослей *Phaeodactylum tricornutum*... С. 65—70; Симаков Ю.Г., Никифоров-Никишин А.Л., Татаренко Л.Ю. Влияние диспергентов нефти на организмы фитопланктона // Инновационное развитие: потенциал науки и современного образования. Сб. статей II Международной научно-практической конференции. Пенза: «Наука и просвещение», 2018. С. 23—25.

Для оценки влияния диспергента на фитопланктон в качестве тест-объекта была использована альгологически чистая культура морских одноклеточных водорослей *Phaeodactylum tricornutum*. Водоросли культивировали на среде Гольдберга в модификации Кабановой. Условия культивирования и проведения эксперимента:

— освещение искусственное, 3000 лк, продолжительность светового дня 12 часов;

— температура 20 ± 2 °C.

Для опыта брали культуру в экспоненциальной фазе роста (через 3 суток после пересева культуры). При определении пригодности культуры водорослей для биотестирования предварительно оценивали ее чувствительность к стандартному токсиканту $K_2Cr_2O_7$. Полученная величина LK_{50} (96 ч), равная 7,1 мг/дм³, укладывается в нормативный диапазон реагирования для данного вида водорослей (5,8—10,0 мг/дм³).

Опыты проводили в колбах объемом 100 см³, содержащих по 50 см³ контрольных и опытных растворов. Повторность в опыте и контроле была трехкратная. Начальная плотность клеток в эксперименте — 20 тыс. кл./мл. Длительность опыта составляла 14 суток. Контролем служила среда Гольдберга без добавления вещества. Влияние диспергента на водоросли оценивалось по изменению оптической плотности, измеренной на фотометре «Эксперт-003» при длине волны 626 нм.

Надежность результатов обеспечена трехкратной повторностью опыта, что гарантирует статистическую достоверность полученных данных и позволяет минимизировать влияние случайных факторов на результаты исследования. Исходная концентрация клеток в 20 тыс. кл./мл является оптимальной при проведении эксперимента, так как обеспечивает достаточную плотность популяции для достоверного измерения оптической плотности при сохранении линейности зависимости между плотностью клеток и показаниями фотометра.

Данная методология исследования является научно обоснованной и позволяет получить достоверные данные о влиянии тестируемого диспергента на водоросли. Трехкратная повторность, оптимальный период наблюдения и стандартизированные условия эксперимента обеспечивают высокую надежность и воспроизводимость результатов. Полученные данные могут служить основой для дальнейшего анализа токсического воздействия диспергента на водоросли и оценки его экологической безопасности.

Результаты исследования. В остром опыте была оценена острая токсичность диспергента нефти в диапазоне концентраций 1,0—10,0 мг/дм³. Величина полуметальной концентрации препарата LK_{50} (72) составила более 10,0 мг/дм³.

Динамика изменения численности клеток (оптической плотности) водорослей *Phaeodactylum tricornutum* при различных концентрациях диспергента нефти представлена в Табл. 1.

Табл. 1. Динамика изменения численности клеток (оптической плотности) водорослей при различных концентрациях диспергента.

Концентрация диспергента, мг/дм ³	Время эксперимента (сутки, часы)	
	1 (24)	3 (72)
Оптическая плотность, M(m), L = 1 см, длина волны = 626 нм		
Контроль	0,032(0,003)	0,083(0,004)
0,1	0,031(0,001)	0,085(0,002)
Td	—	—
0,5	0,033(0,001)	0,090(0,002)
Td	—	—
1,0	0,030(0,001)	0,084(0,011)
Td	—	—
5,0	0,031(0,001)	0,085(0,006)
Td	—	—
10,0	0,031(0,002)	0,092(0,001)
Td	—	3,18
% от контроля		
Контроль	100,0	100,0
0,1	96,8	102,4
0,5	102,0	107,4
1,0	94,7	101,1
5,0	96,8	102,4
10,0	97,9	110,2

Прим.: жирным шрифтом выделены концентрации, где отличие показателя от контроля статистически значимо (уровень значимости 0,05); M — среднее значение показателя; m — доверительный интервал; Td — значение критерия Стьюдента.

Согласно ГОСТ 31960-2012 «Вода. Методы определения токсичности по замедлению роста морских одноклеточных водорослей *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin и *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve», установить полулетальную концентрацию и степень токсичности вещества не представляется возможным. По результатам проведенного экспе-

римента видно, что в диапазоне концентраций 0,1—5,0 мг/дм³ статистически достоверных отклонений от контроля не наблюдалось на протяжении всего опыта. При этом на третьи сутки эксперимента при концентрации диспергента 10,0 мг/дм³ отмечено статистически достоверное отклонение от контроля, что обусловлено стимулирующим действием смесового препарата и не является проявлением острого токсического эффекта.

Таким образом, экспериментально показано, что максимально недействующей концентрацией диспергента нефти для фитопланктона является концентрация 5,0 мг/дм³, пороговой концентрацией — 10,0 мг/дм³.

Выводы. Проведенное исследование позволяет сделать обоснованное заключение, что при использовании в концентрациях до 5,0 мг/дм³ диспергент не оказывает токсического воздействия на морской фитопланктон *Phaeodactylum tricornutum*. Пороговая концентрация воздействия определена на уровне 10,0 мг/дм³. Полученные данные свидетельствуют о допустимости применения данного диспергента для ликвидации аварийных разливов нефти при условии соблюдения дозировок, не превышающих экологически безопасный уровень. Результаты исследования могут служить основой для разработки рекомендаций по экологически обоснованному использованию диспергентов в морских экосистемах с минимальным риском для фитопланктонных сообществ.

Список литературы

1. ГОСТ 31960-2012 «Вода. Методы определения токсичности по замедлению роста морских одноклеточных водорослей *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin и *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve».
2. ГОСТ 32473-2013 «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды».
3. Ковалев Н.Н., Лескова С.Е., Михеев Е.В., Позднякова Ю.М., Есипенко Р.В. Культуральные и биохимические показатели микроводорослей *Phaeodactylum tricornutum* и *Tetraselmis suecica* в накопительных культурах // Вестник ТГТУ. 2020. № 53-54. С. 65—70.
4. Ликвидация аварийных разливов нефти. Учебное пособие. М.: Изд-во МГУ, 2022. 120 с.
5. Метелев В.В., Канаев А.И., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология. М.: «Колос», 1971. 247 с.
6. Применение диспергентов для обработки нефтяных разливов. Методические рекомендации. М.: ОСПРИ, 2013. 45 с.
7. Разливы нефти: проблемы, связанные с ликвидацией последствий разливов нефти в Арктических морях / Всемирный фонд дикой природы (WWF). Осло: WWF, 2008. 28 с.

8. Симаков Ю.Г., Никифоров-Никишин А.Л., Татаренко П.Ю. Влияние диспергентов нефти на организмы фитопланктона // Инновационное развитие: потенциал науки и современного образования. Сб. статей II Международной научно-практической конференции, Пенза, 20 апреля 2018 г. Пенза: «Наука и просвещение», 2018. С. 23—25.

Сведения об авторах

Медянкина Мария Владимировна, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры экологии и природопользования Московского государственного университета технологий и управления им. К.Г. Разумовского. E-mail: 79263841762@ya.ru

Губайдулина Стефания Вячеславовна, студент Московского государственного университета технологий и управления им. К.Г. Разумовского. E-mail: stegozavrrar@gmail.com

Фролова Варвара Сергеевна, студент Московского государственного университета технологий и управления им. К.Г. Разумовского. E-mail: frolovava2004@gmail.com

Тригуб Анатолий Григорьевич, старший преподаватель, эксперт Центра «Аквакультуры» факультета биотехнологий и рыбного хозяйства Московского государственного университета технологий и управления им. К.Г. Разумовского. E-mail: morflot931@gmail.com

Information about the authors

Medyankina Maria Vladimirovna, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Ecology and Nature Management, K.G. Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management. Email: 79263841762@ya.ru

Gubaidulina Stefania Vyacheslavovna, Student, K.G. Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management. E-mail: stegozavrrar@gmail.com

Frolova Varvara Sergeyevna, Student, K.G. Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management. E-mail: frolovava2004@gmail.com

Trigub Anatoly Grigorievich, Senior Lecturer, expert of the Center for «Aquaculture» of the Faculty of Biotechnology and Fisheries, K.G. Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management. E-mail: morflot931@gmail.com