

Міністерство освіти і науки України  
Національний університет  
«Полтавська політехніка імені Юрія Кондратюка»

Навчально-науковий інститут нафти і газу  
Кафедра буріння та геології  
Освітньо-кваліфікаційний рівень магістр  
Спеціальність Гірництво та нафтогазові технології  
Освітня програма Буріння нафтових і газових свердловин

ЗАТВЕРДЖУЮ

Гарант освітньої програми  
Харченко М.О.

«22» 01 2026 року

Завідувач кафедри буріння та геології  
Винников Ю.Д.

«22» 01 2026 року

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

на тему Екологічний моніторинг та оцінка небезпечності бурових шламів при спорудженні свердловин

**Пояснювальна записка**

Керівник

Старший викладач  
кафедри буріння та геології  
Харченко І.Г.

посада, наук. ступінь, ПІБ

підпис, дата

Консультант за 1 розділом

К.т.н., доцент кафедри буріння та геології  
А.М. Ягольник

посада, наук. ступінь, ПІБ, підпис

Консультант за 2 розділом

К.т.н., доцент кафедри буріння та геології  
М.О. Харченко

посада, наук. ступінь, ПІБ, підпис

Консультант за 3 розділом

К.т.н., доцент кафедри буріння та геології  
М.О. Харченко

посада, наук. ступінь, ПІБ, підпис

Дата захисту 23.01.2026р.

Полтава, 2026

Виконавець роботи

студент група 601-НБ

Чекалкін Володимир Володимирович

студент, ПІБ

підпис, дата,

Національний університет  
«Полтавська політехніка імені Юрія Кондратюка»

Навчально-науковий інститут: Нафти і газу  
Кафедра: Буріння та геології  
Освітньо-кваліфікаційний рівень: Магістр  
Спеціальність: 185 Нафтогазова інженерія та технологій  
Освітня програма: Буріння нафтових і газових свердловин

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри буріння та геології  
Винников Ю.Л.

« 3 » 09 2025 року

**ЗАВДАННЯ**  
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТА

**Чекалкін Володимир Володимирович**

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Екологічний моніторинг та оцінка небезпечності бурових шламів при спорудженні свердловин
2. Керівник роботи ст.викл. кафедри буріння та геології Харченко І.Г.

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом вищого навч. закладу від « 3 » 09 2025 року № 1015-р/д

3. Строк подання студентом роботи 13.01.2026р

4. Вихідні дані до роботи

1. Нормативно-технічна література, періодичні видання, патенти на винаходи за темою роботи.

2. Проекти на влаштування свердловин (за необхідності).

3. Геологічні звіти за профілем роботи (за необхідності)

5. Зміст роботи (перелік питань, які потрібно розробити)

Анотація

Вступ

1. Аналітичний огляд літературних джерел та сучасного стану досліджуваної проблеми

2. Обґрунтування об'єкта дослідження, вихідних даних та методів розв'язання поставлених задач.

3. Дослідження, розрахунки та експериментальне обґрунтування прийнятих технічних рішень.

Загальні висновки по роботі

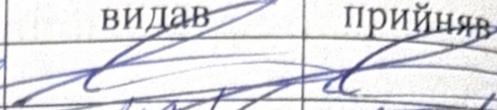
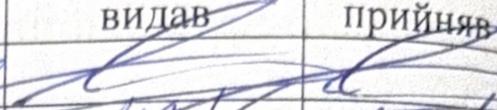
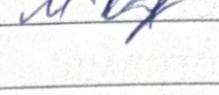
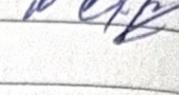
Список використаних джерел

Додатки (за необхідності)

6. Перелік графічного матеріалу

Презентація із основними результатами кваліфікаційної роботи

### 7. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	к.т.н. доц. Яковенко А.М.		
2	к.т.н., доц. Карченко М.О.		
3	к.т.н. доц. Карченко М.О.		

8. Дата видачі завдання 3.09.2025р

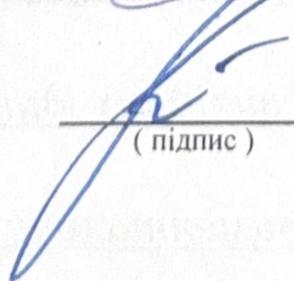
### КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Етапи підготовки	Термін виконання
1	Аналіз літературних джерел та сучасного стану проблеми	13.10.2025 – 02.11.2025
2	Формування мети, задач, обґрунтування об'єкта і предмета дослідження	03.11.2025 – 16.11.2025
3	Виконання основної частини роботи (розрахунки / експерименти / аналіз)	17.11.2025 – 28.12.2025
4	Узагальнення результатів, формування висновків	29.12.2025 – 05.01.2026
5	Оформлення та узгодження кваліфікаційної роботи	06.01.2026 – 12.01.2026
6	Попередній захист кваліфікаційної роботи	13.01.2026 – 15.01.2026
7	Захист кваліфікаційної роботи	19.01.2026 – 23.01.2026

Студент

 (підпис) Чкашкін Р.В. (прізвище та ініціали)

Керівник роботи

 (підпис) Карченко І.Г. (прізвище та ініціали)

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ .....	3
ANOTATION .....	4
ВИЗНАЧЕННЯ .....	5
ВСТУП.....	7
INTRODUCTION.....	10
РОЗДІЛ 1 АНАЛІЗ СУЧАСНОГО СТАНУ ПИТАННЯ. МЕТА ТА ЗАДАЧІ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	13
1.1 Склад та хімічні властивості бурового шламу .....	13
1.2 Екологічні наслідки накопичення та поводження з буровими шламами.....	14
1.3 Сучасні методи утилізації та знешкодження бурових шламів .....	20
1.4 Висновки до розділу 1. Мета та задачі дослідження.....	25
РОЗДІЛ 2 МЕТОДИ БІОТЕСТУВАННЯ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ БУРОВИХ ВІДХОДІВ .....	27
2.1 Теоретичні основи біотестування та вибір тест-організмів.....	27
2.2 Методика визначення токсичності середовищ різними тест-об'єктами.....	28
2.3 Біотестування з використанням <i>Drosophila melanogaster</i> .....	31
.....	36
2.4 Методичні особливості оцінки токсичності бурових шламів .....	38
2.5 Висновки до розділу 2 .....	46
РОЗДІЛ 3 ОЦІНКА ТОКСИЧНОСТІ БУРОВИХ ШЛАМІВ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ЛАБОРАТОРНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	47
3.1 Постановка експерименту та характеристика досліджуваних зразків .....	47
3.2 Матеріали, обладнання та методики проведення досліджень.....	48
3.3 Результати біотестування та їх інтерпретація .....	54
3.4 Еколого-геохімічний аналіз токсичності бурових шламів нафтових родовищ .....	57
3.5 Висновки по розділу 3 .....	62
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ .....	65

GENERAL CONCLUSIONS ON THE WORK .....	67
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	69

## АНОТАЦІЯ

Чекалкін В.В. Екологічний моніторинг та оцінка небезпечності бурових шламів при спорудженні свердловин. Кваліфікаційна робота магістра за спеціальністю 185 «Нафтогазова інженерія та технології». – Полтава; Національний університет «Полтавська політехніка імені Юрія Кондратюка». – 2026.

Роботу присвячено комплексній еколого-геохімічній оцінці бурових шламів та визначенню їх токсичності з використанням сучасних методів біотестування.

У розділі 1 проаналізовано хімічний склад бурових шламів, їх фізико-механічні властивості та основні небезпечні компоненти (важкі метали, нафтопродукти, токсичні реагенти). Встановлено екологічні наслідки накопичення шламів у земляних коморах та розглянуто сучасні методи утилізації й знешкодження, включаючи термічні, хімічні, фізико-хімічні та біологічні технології.

Розділ 2 присвячено теоретичним засадам біотестування та методикам визначення токсичності бурових відходів. Окрему увагу зосереджено на використанні *Drosophila melanogaster* як високочутливого модельного організму для оцінки гострої, хронічної та мутагенної дії токсикантів. Наведено особливості проведення тестів, критерії токсичності, інтерпретацію показників  $LC_{50}$ ,  $NOEC$ ,  $\chi^2$  та підходи до багатовидової оцінки.

У розділі 3 наведено результати лабораторних досліджень токсичності бурових шламів з різних нафтових родовищ України. Встановлено, що 50 % досліджених зразків проявляють статистично значущу токсичність, яка супроводжується підвищеною смертністю личинок (до 60–70 %), зменшенням плодючості дрозофіли та відхиленнями статевого співвідношення (дефіцит самців 14–15 %).

**Ключові слова:** свердловина, шлам, токсичність, утилізація, екологічна безпека, біотестування, важкі метали, нафта, родовище.

## ANOTATION

Chekalkin V.V. Environmental Monitoring and Hazard Assessment of Drill Cuttings During Well Construction. Master's qualification thesis, specialty 185 "Oil and Gas Engineering and Technology". – Poltava; National University "Yuri Kondratyuk Poltava Polytechnic". – 2026.

This Master's thesis is devoted to the comprehensive ecological and geochemical assessment of drill cuttings and the determination of their toxicity using modern biotesting methods.

Chapter 1 analyzes the chemical composition of drill cuttings, their physical and mechanical properties, and the main hazardous components (heavy metals, petroleum hydrocarbons, toxic drilling-fluid reagents). The environmental consequences of drill cuttings accumulation in earthen pits are identified, and modern methods of their disposal and neutralization are considered, including thermal, chemical, physico-chemical, and biological technologies.

Chapter 2 focuses on the theoretical foundations of biotesting and the methodologies for determining the toxicity of drilling waste. Particular attention is paid to the use of *Drosophila melanogaster* as a highly sensitive model organism for assessing acute, chronic, and mutagenic effects of toxicants. Features of test procedures, toxicity criteria, interpretation of  $LC_{50}$ , NOEC,  $\chi^2$  indicators, and approaches to multi-species toxicity evaluation are presented.

Chapter 3 provides the results of laboratory studies of drill-cuttings toxicity from various Ukrainian oilfields. It was established that 50% of the analyzed samples exhibit statistically significant toxicity, manifested by increased larval mortality (up to 60–70%), decreased *Drosophila* fecundity, and deviations in sex ratios (male deficit of 14–15%).

**Keywords:** well, drill cuttings, toxicity, disposal, environmental safety, biotesting, heavy metals, oilfields.

## ВИЗНАЧЕННЯ

У цій роботі застосовані наступні терміни з відповідними визначеннями:

- **буровий розчин:** Складна багатоконпонентна дисперсна система суспензійних, емульсійних та аерованих рідин, що застосовуються для промивання свердловин у процесі буріння.
- **буровий шлам:** Водна суспензія, тверда частина якої складається з продуктів руйнування гірських порід вибою та стінок свердловини, продуктів стирання бурового снаряда та обсадних труб, глинистих мінералів (при промиванні глинистим розчином).
- **шламовий амбар:** Природоохоронна споруда, призначена для централізованого збору, знешкодження та поховання токсичних промислових відходів буріння нафтових свердловин (буровий шлам, відпрацьовані бурові відходи, бурові стічні води).
- **шламонакопичувач:** Основний різновид поверхневих сховищ, що споруджується за одним або багатокаскадним принципом зі створенням греблі, берегів, а також шламосховища.
- **нафтопродукти:** Суміші вуглеводнів, а також індивідуальні хімічні сполуки, що одержуються з нафти та нафтових газів.
- **бентос:** Сукупність організмів, що мешкають на ґрунті та в ґрунті дна водойм.
- **гідробіонти:** Морські та прісноводні організми, що постійно мешкають у водному середовищі.
- **біотестування:** Процедура встановлення токсичності середовища за допомогою тест-об'єктів, сигналізують про небезпеку незалежно від того, які речовини та у якому поєднанні викликають зміни життєво важливих функцій у тест-об'єктів.
- **тест-об'єкт:** Організми, використовуються при оцінці токсичності хімічних речовин і їх сумішей, компонентів навколишнього середовища (природні води, ґрунти, донні відкладення), кормів, а також техногенних

середовищ - стічних вод, відходів виробництва.

- **drosophila melanogaster (чорнобрюха дрозофіла):** Двокрила комаха, вид плодової мухи з роду дрозофіл, що найчастіше використовується в генетичних експериментах.

- **daphnia magna:** Рід планктонних ракоподібних з надзагону гіллястоусих (Cladocera).

- **токсикант:** Речовини або сполуки, здатні надавати отруйну дію на живі організми.

- **токсичність:** Токсикометричний показник, що обчислюється як величина, обернена до середньої смертельної дози або середньої смертельної концентрації токсичної речовини.

- **токсичний ефект:** Результат взаємодії організму, шкідливої речовини та навколишнього середовища.

- **критерії токсичності:** Якісні та кількісні показники відгуку організмів на вплив токсичних речовин.

- **морфози:** Неспадкова зміна фенотипу організму в онтогенезі під впливом екстремальних факторів середовища.

- **клас небезпеки:** умовна величина, призначена для спрощеної класифікації потенційно небезпечних речовин.

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Під час спорудження нафтових і газових свердловин утворюється значна кількість бурового шламу, який є складним багатокомпонентним техногенним відходом, здатним тривалий час зберігати токсичні властивості. У його складі виявляють десятки небезпечних компонентів – нафтопродукти (2000–13880 мг/кг), важкі метали (Pb, Cd, Ni, Zn), парафіно-нафтенові фракції, хімічні реагенти бурових розчинів, а також солі та бентонітові структури, що практично не піддаються природній біодеструкції. Такий хімічний склад визначає високий токсикологічний потенціал шламу та становить загрозу для ґрунтів, водних ресурсів і біоти.

На багатьох українських родовищах бурові шлами досі накопичуються у земляних шламових амбарах без достатньої гідроізоляції, що спричиняє тривале забруднення довкілля. Дослідження свідчать, що продукти рафінації та важкі метали можуть мігрувати у ґрунтові води на глибину до 80 метрів, формувати вторинні осередки засолення та нафтового забруднення, а рослинний покрив відновлюється менш ніж на 50 % навіть через 10–15 років. Такі наслідки особливо критичні для регіонів із розвинутою нафтогазовою інфраструктурою, включаючи Прикарпаття, Полтавщину та Сумщину.

Застарілі способи поводження з шлами – захоронення, тимчасове складування, часткове зневоднення – не відповідають сучасним екологічним вимогам ЄС та принципам сталого розвитку. Водночас хімічний аналіз не здатний повністю оцінити небезпеку шламу, оскільки токсичність формується сукупною дією десятків компонентів, які демонструють синергічні ефекти. Це потребує застосування біотестування – методу, що дозволяє оцінити реальний біологічний вплив матеріалу на живі організми.

Особливої актуальності проблема набуває в умовах планованої інтеграції екологічних стандартів у нафтогазовій галузі України, що вимагає створення ефективних інструментів контролю та екологічної оцінки бурових відходів. Використання модельних організмів, таких як *Drosophila melanogaster*, дає

можливість оперативно та надійно визначити мутагенну, хронічну та репродуктивну токсичність шламів, що неможливо встановити хімічними методами.

Підвищення екологічної безпеки поводження з буровими шламами, розроблення методів їхньої оцінки та створення науково обґрунтованої класифікації токсичності є надзвичайно актуальними для сучасної нафтогазової промисловості України та відповідають глобальним тенденціям сталого природокористування.

**Метою роботи** є оцінити токсичність бурових шламів різних нафтових родовищ України за допомогою методів біотестування та встановити рівень їх екологічної небезпечності.

**Основні завдання** дослідження:

1. Проаналізувати хімічний склад, фізико-механічні властивості та екологічні ризики бурових шламів.
2. Вивчити теоретичні основи біотестування та обґрунтувати вибір модельних тест-організмів для визначення токсичності.
3. Розробити та застосувати експериментальні методики біотестування, включаючи визначення гострої, хронічної та мутагенної токсичності.
4. Провести лабораторне біотестування бурових шламів із використанням *Drosophila melanogaster* та інших модельних організмів.
5. Виконати еколого-геохімічну інтерпретацію результатів та сформулювати класи токсичності бурових шламів з відповідними рекомендаціями щодо їх утилізації

Методика вирішення поставлених завдань ґрунтується на вивченні та узагальненні теоретичних знань щодо аналізованої проблеми, проведення лабораторного дослідження і пошуку рішення проблеми безпечною для навколишнього середовища утилізації бурого шламу.

**Об'єктом дослідження** є процес формування та прояву токсичності бурових шламів у природних і лабораторних умовах..

**Предметом дослідження** є методи визначення токсичності бурових шламів та біологічні реакції тест-організмів на вплив токсичних компонентів.

**Наукова новизна роботи** – удосконалено комплексну систему біотестування для бурових шламів в Україні з використанням *Drosophila melanogaster*, що дозволило встановити їх генотоксичний та репродуктивний вплив і сформувати тріступеневу класифікацію токсичності.

**Практична цінність роботи** – отримані результати можуть бути використані підприємствами нафтогазової галузі для екологічного моніторингу, вибору методів утилізації бурових шламів та мінімізації ризиків їхнього впливу на біоту й довкілля.

**Методи дослідження:** аналіз наукових джерел; порівняльний аналіз; системний підхід; узагальнення; класифікація; техніко-економічне оцінювання; аналіз виробничого досвіду.

**Структура і обсяг роботи.** Магістерська робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків та списку використаних джерел. Робота викладена на 74 сторінках, у тому числі 70 сторінках основного тексту, 17 рисунків, 18 таблиць, 47 списку використаних джерел.

## INTRODUCTION

**Relevance of the topic.** During the construction of oil and gas wells, a significant amount of drill cuttings (drilling waste) is generated, which is a complex multicomponent technogenic by-product capable of retaining its toxic properties for a long time. Its composition includes dozens of hazardous components—petroleum products (2000–13,880 mg/kg), heavy metals (Pb, Cd, Ni, Zn), paraffin–naphthenic fractions, chemical additives of drilling fluids, as well as salts and bentonite structures that are highly resistant to natural biodegradation. Such a chemical composition determines the high toxicological potential of drill cuttings and poses a risk to soils, water resources, and biota.

At many Ukrainian oilfields, drill cuttings are still accumulated in earthen waste pits without sufficient hydro-isolation, which leads to long-term environmental contamination. Studies show that petroleum fractions and heavy metals can migrate into groundwater to a depth of up to 80 meters, forming secondary hotspots of salinization and oil pollution, while vegetation recovery in affected areas remains below 50% even after 10–15 years. These consequences are especially critical for regions with developed oil and gas infrastructure, including the Carpathian region, Poltava, and Sumy oblasts.

Traditional methods of handling drill cuttings—burial, temporary storage, partial dewatering—do not meet modern EU environmental standards and the principles of sustainable development. At the same time, chemical analysis alone cannot fully evaluate the hazard of drill cuttings, because toxicity results from the combined action of dozens of components that often exhibit synergistic effects. This makes bioassay (biotesting) essential as a method that allows assessing the real biological impact of the material on living organisms.

The problem becomes particularly relevant in the context of the planned integration of modern environmental standards into Ukraine's oil and gas industry, which requires the development of effective tools for monitoring and environmental assessment of drilling waste. The use of model organisms such as *Drosophila*

melanogaster enables rapid and reliable determination of mutagenic, chronic, and reproductive toxicity—effects that cannot be adequately identified by chemical methods alone.

Improving the environmental safety of drill cuttings management, developing methods for their assessment, and creating a scientifically based toxicity classification are highly relevant for the modern oil and gas industry of Ukraine and align with global trends in sustainable resource use.

**The aim of this research** is to assess the toxicity of drill cuttings from various Ukrainian oilfields using biotesting methods and to determine their level of ecological hazard.

**The main objectives of the study are:**

1. To analyze the chemical composition, physical-mechanical properties, and environmental risks associated with drill cuttings.
2. To study the theoretical foundations of biotesting and to justify the selection of model test organisms for toxicity assessment.
3. To develop and apply experimental biotesting methodologies, including the determination of acute, chronic, and mutagenic toxicity.
4. To conduct laboratory biotesting of drill cuttings using *Drosophila melanogaster* and other model organisms.
5. To perform ecological and geochemical interpretation of the results and develop a toxicity classification system with corresponding recommendations for waste utilization.

The methodology for addressing the research objectives is based on the study and generalization of theoretical knowledge on the problem, laboratory experimentation, and the search for environmentally safe solutions for the disposal of drill cuttings.

**The object of the study** is the process of formation and manifestation of toxicity of drill cuttings under natural and laboratory conditions.

**The subject of the study** includes methods for determining the toxicity of drill cuttings and the biological responses of test organisms to toxic components.

**Scientific novelty of the work** – a comprehensive biotesting system using *Drosophila melanogaster* was applied to Ukrainian drill cuttings for the first time, enabling the identification of genotoxic and reproductive effects and the development of a three-level toxicity classification.

**Practical significance of the work** – the obtained results can be applied by oil and gas companies for environmental monitoring, the selection of drill cuttings disposal methods, and the minimization of risks to biota and the environment.

**Research methods:** analysis of scientific sources; comparative analysis; systems approach; generalization; classification; techno-economic evaluation; analysis of operational experience.

**Structure of the work.** The Master's thesis consists of an introduction, three chapters, conclusions, and a list of references. The total volume is 74 pages, including 70 pages of main text, 17 figures, 18 tables, and 47 references.

# РОЗДІЛ 1 АНАЛІЗ СУЧАСНОГО СТАНУ ПИТАННЯ. МЕТА ТА ЗАДАЧІ ДОСЛІДЖЕННЯ

## 1.1 Склад та хімічні властивості бурового шламу

У процесі буріння свердловини утворюються бурові відходи: відпрацьований буровий розчин, частинки вибуреної гірської породи, зважені в буровому розчині (буровий шлам) та бурові стічні води. Всі ці складові у різних пропорціях містять буровий розчин, воду та породу. Відпрацьований буровий розчин після проходження очищення від забруднень може використовуватися знову як буровий розчин. Вміст вибуреної породи досягає 45-55%, бурового розчину 35-45% і 20% припадає на технологічні викиди, воду та нафту.

Бурові відходи є рідкою маслянистою масою темно-сірого кольору з металевим відтінком, що має запах нафти. Щільність цієї маси визначається виходячи з щільності бурового розчину та вибуреної породи. В'язкість бурових відходів становить 0,11-4,55 Па\*с. Плинність залежить прямо пропорційно від вмісту води в розчині та від його очищення. У зневоднених бурових відходів немає плинність та їх легко перетворити на порошок.

Бурові відходи - це колоїдний розчин, що складається з частинок піску та глини, а також хімічних реагентів та нафти у воді. У складі даного розчину нафту та нафтопродукти досягають 5,5%, поверхнево-активні речовини – 0,51%. Зміст нафтопродуктів у буровому шламі коливається у межах від 2000 до 13880 мг/кг. Нафтова частина представлена в основному парафіно-нафтовими вуглеводнями – 41,7%, з них 21% – тверді парафіни. Ароматичні вуглеводні становлять 20,2%, смоли – 19,1%, асфальтени – 5,5%. Неорганічну частину представляють переважно оксиди кремнію і заліза, невеликі кількості сполук алюмінію, натрію, цинку та інших металів.

Також у буровому шламі є важкі метали, такі як хром, мідь, ванадій, свинець, нікель. Але, незважаючи на їх присутність буровий шлам відносять до відходів з низьким вмістом важких металів [1].

Склад бурового шламу залежить від хімічного складу бурового розчину. Буровий шлам разом з вибуреною породою і нафтою включає всі хімічні сполуки, що використовуються для приготування бурових розчинів. Кількість глини в шламі становить від 30 до 90%, обтяжувача -10-30%. В основному до складу бурового розчину входять бентоніти. Бентоніт є розчином на основі глинопорошка і не дає осідати вибуреною породі, що дозволяє виносити буровий шлам на поверхню під час буріння. Бентонітом прийнято називати будь-яку глину, що містить не менше 70% мінералу монтморилонітової групи. Крім цього у буровому розчині присутні карбоксиметилцелюлозна, нітрогліцерин, гідроокис кальцію, поліфенол, вуглелужні реагенти, суспензії та інші токсичні речовини.

У своєму складі буровий шлам містить широкий спектр забруднювачів як органічної природи, так і мінеральної, представлених матеріалами та хімреагентами, що використовуються для приготування та обробки бурового розчину. У складі бурового шламу знаходиться від 40 до 70 різних забруднюючих речовин. При цьому в середньому на 1 м<sup>3</sup> відходів доводиться до 68 кг забруднюючої органіки, не рахуючи нафти та нафтопродуктів та забруднювачів мінеральної природи. Ці забруднювачі та визначають рівень та характер забруднення природного середовища.

Показником біоремедіації є рН бурового розчину, який відповідає лужному середовищу та становить 8,5-10,5 залежно від технологічних особливостей підприємства. Американськими вченими було з'ясовано, що оптимальний рН для переробки при внесенні в ґрунт повинен змінюватись від 7,8 до 8,1 [2].

## **1.2 Екологічні наслідки накопичення та поводження з буровими шламами**

Буровий шлам – основний відхід буріння свердловин – становить значну екологічну загрозу для компонентів навколишнього середовища та здоров'я людини. При оцінці екологічної небезпеки бурових шламів вирішальну роль

відіграє присутність у їхньому складі нафтових вуглеводнів, токсичних компонентів бурових розчинів, важких металів та розчинних солей. Комплексна природа цих забруднювачів визначає багатовекторний характер екологічного впливу та складність розробки ефективних заходів мінімізації шкоди.

Головним токсичним агентом у складі бурових шламів вважаються нафта та її фракції, які накопичуються під час буріння при контакті бурового розчину з пластовою нафтою. За міжнародними стандартами та нормами, максимально допустимий вміст залишкової нафти в бурових шламах, що скидаються після очищення, не повинен перевищувати 100 г/кг (10% за масою). Однак у реальній практиці видобування на деяких українських родовищах Дніпровсько-Донецької западини цей показник часто перевищується.

Нафтові вуглеводні адсорбуються на частинках твердої фази шламу, утворюючи стійкі комплекси, що розповсюджуються в навколишньому середовищі та накопичуються в організмах живих істот.

Буровий шлам накопичує рухомі форми важких металів – свинцю (Pb), кадмію (Cd), міді (Cu), цинку (Zn), нікелю (Ni) та інших, які надходять як з гірських порід розрізу, так і з компонентів бурових розчинів. При тривалому контакті з морською водою або при фільтрації у ґрунтові води ці елементи можуть вимиватися та створювати значні концентрації токсикантів, часто перевищуючи гранично допустимі концентрації (ГДК).

До складу бурових розчинів та шламів входять органічні речовини забруднювального характеру: залишки вуглеводнів, фенолічні сполуки, поліциклічні ароматичні вуглеводні (ПАВ), що характеризуються високою мутагенністю та канцерогенністю. Крім того, деякі хімічні реагенти, застосовувані для корегування властивостей бурових розчинів, можуть мати токсичну дію.

Бурові розчини й шлами містять підвищені концентрації хлоридів натрію і калію, сульфатів та гідрокарбонатів, що створюють осмотичний стрес для живих організмів та спричиняють засолення ґрунтів.

При потраплянні вибуреного шламу до водойм відбувається значне збільшення каламутності води, що погіршує водне середовище існування гідробіонтів. Токсичні речовини, адсорбовані на частинках бурового шламу, поступово обмиваються в водному середовищі, розчиняючись та накопичуючись у воді та організмах живих істот.

Дослідження екологічного впливу буріння на морських шельфах показали, що концентрації нафтових вуглеводнів на відстані до 3000 метрів від буової платформи перевищують ГДК у кілька разів. Макробентос (придонна фауна) у цих районах залишається сильно видозміненим та виснаженим, що свідчить про потужний довгостроковий вплив бурових відходів.

При розробці морських родовищ встановлено, що компоненти бурових розчинів як органічного, так і неорганічного походження мають токсичну дію на ембріони та личинки двостулкових молюсків, молодь креветок та інших гідробіонтів.

За даними міжнародних досліджень щорічно скидається до 60 000 м<sup>3</sup> бурового розчину та 15 000 м<sup>3</sup> шламу з однієї платформи, що демонструє масштаби забруднення. В умовах морського середовища процес самоочищення протікає повільно через  $\text{H}_2\text{O}$  вміст розчиненого кисню та невелику видову різноманітність організмів.

На відміну від морського шельфу, в умовах обмеженого гідрологічного режиму характеризуються ще нижчою здатністю до самоочищення. Якщо в районах помірного клімату річки можуть самоочищуватися на ділянках 200–300 км, то для самоочищення води в критичних умовах часто потрібні річки довжиною 1500–2000 км, що обмежує допустимі обсяги скидання бурових відходів.

Накопичення бурових шламів у водойми призводить до зміни:

- рН – зміщення в кислу або лужну сторону
- солоності – засолення прісноводних водойм
- електропровідності – індикатор концентрації іонів
- окислюваності – показник вмісту органічних речовин

– температурного режиму – затемнення води зменшує прозорість та вплива на теплові процеси

Ці зміни порушують нормальне функціонування екосистем і створюють екстремальні умови для розвитку гідробіонтів.

Найбільшу екологічну загрозу для природного середовища представляють виробничо-технологічні відходи буріння, які накопичуються та зберігаються безпосередньо на території буровій установки в спеціалізованих шламових амбарах. У своєму складі вони містять широкий спектр забруднювачів мінеральної та органічної природи.

Довге накопичення бурового шламу в нерекультивованих шламових амбарах сприяє потужному зв'язуванню нафти та інших забруднюючих речовин із ґрунтовими частинками, роблячи тверду фазу шламу постійним джерелом токсичних, мутагенних та канцерогенних забруднювачів. Розрахункові та натурні дослідження показали, що рідкі відходи буріння проникають у ґрунт на глибину до 80 метрів через бічні стінки земляних шламових амбарів, які зазвичай не мають надійної гідроізоляції.

При розливі нафтовмісних бурових відходів основною причиною загибелі рослин є витіснення кисню із ґрунту. Нафтові вуглеводні утворюють гідрофобну плівку на поверхні ґрунтових частинок, що запобігає аерації та створює умови анаеробіозу, несумісні з нормальним функціонуванням коренів рослин та мікробної спільноти.

Нафтозабруднені ґрунти характеризуються різким порушенням співвідношення вуглецю до азоту (C:N), що погіршує азотний режим та порушує кореневе живлення рослин. Накопичення органічних речовин без достатньої мінералізації їх мікроорганізмами створює стресові умови для розвитку флори.

При наявності високих концентрацій розчинних солей у рослин відбуваються такі негативні процеси:

- руйнування цитоплазматичних мембран
- зменшення активності ферментів
- зміни білкового обміну

- утворення токсичних продуктів у тканинах

Особливо небезпечні для рослин такі іони: натрій ( $\text{Na}^+$ ), хлор ( $\text{Cl}^-$ ), що викликають вторинне засолення ґрунтів.

Вивчення наслідків забруднення наземного рослинного покриву буровими відходами показує критичний стан:

- Одразу після розливу – рослинний покрив практично повністю знищується

- Через 5 років – лише незначне (менш 25%) відновлення рослинності

- Через 15 років – рослинність відновлюється менш ніж наполовину

Такі повільні темпи рекультивації обумовлені стійкістю нафтових забруднень та деградацією мікробної спільноти ґрунту, що супроводжує мінералізацію забруднювачів.

Прогноз самоочищення ґрунтів: Природне самоочищення ґрунтів від нафтовмісних забруднень протікає дуже повільно – часто вимагає десятків років, що робить необхідним активні рекультиваційні заходи.

Забруднення навколишнього середовища при буріння можна розділити на постійні та тимчасові джерела:

- Витікання рідких бурових відходів зі шламових амбарів

- Фільтрація через бічні стінки земляних накопичувачів

- Тимчасові джерела забруднення

- Поглинання бурового розчину пластами при проходженні свердловини

- Викиди пластового флюїду на денну поверхню при розгерметизації

- Міжпластові перетікання унаслідок порушення герметичності за колонного простору

- Затоплення території буровій установці під час повені з розливом вмісту шламових амбарів

- Аварійні ситуації – викиди при порушенні цілісності обладнання

Вплив бурових шламів на природні об'єкти може виявлятися як у прямій токсичній дії на живі організми, так і в порушенні екологічної рівноваги біотопів

різних трофічних рівнів при їх взаємодії з абіотичним середовищем. Це створює функціональні uszkodження екосистем, які часто виявляються тривальніше за гострі токсичні ефекти.

На рівні організмів:

- Токсикологічний вплив на людину та компоненти біосфери
- Зменшення тривалості життя та загибель особин
- Поява патологічних ознак та гістологічних порушень в організмі риб

та безхребетних

- Накопичення нафтових вуглеводнів в органах та тканинах тварин
- Аномально висока поширеність каліцтв на ембріональних та

личинкових стадіях розвитку

На рівні популяцій:

- Зниження репродуктивного потенціалу
- Зміни статеві структури популяцій
- Зникнення чутливих видів
- Домінування толерантних видів

На рівні екосистем:

- Порушення продукційно-деструкційних процесів
- Зміни видової структури і різноманітності
- Порушення екологічної рівноваги ґрунтового біоценозу
- Дефрагментація середовища проживання
- Пригнічення та деградація рослинного покриву

На рівні ландшафту:

- Зміни фізико-хімічних параметрів води та ґрунту
- Зниження продуктивності сільськогосподарських земель
- Накопичення важких металів та органічних токсикантів у харчовому

ланцюзі

- Довгострокове забруднення водойм та ґрунтів

Унаслідок складності та багатовекторності впливу бурових шламів на природне середовище традиційна хімічна аналітика, спрямована на визначення

окремих компонентів, не повною мірою характеризує екологічну небезпеку матеріалу.

Комплексна оцінка екотоксичності вимагає використання:

- Хімічних методів – визначення основних токсичних компонентів
- Екотоксикологічних методів – біотестування на різних тест-організмах

- Екологічного моніторингу – оцінка впливу на природні екосистеми

Метод біотестування дозволяє виявити комплексну токсичну дію без необхідності аналізу кожного компонента окремо та врахувати синергічні ефекти взаємодії різних забруднювачів.

### **1.3 Сучасні методи утилізації та знешкодження бурових шламів**

Система дослідження та обробки шламів включає такі основні етапи:

- етап 1: Прогноз доцільності обробки та утилізації шламу за складом базових компонентів з використанням токсикологічної групи показників

- етап 2: Вибір технологічної схеми зневоднення залежно від фільтраційних властивостей шламу.

- етап 3: Контроль зневоднення у контейнері за показниками фільтраційної групи.

- Етап 4: Контроль зміцнення шламу в контейнері за показниками геомеханічної групи.

- Етап 5: Вибір напряму використання шламу як рекультиваційного матеріалу [9].

У 70-80-х роках двадцятого століття, коли з'явилися дані про токсичності бурових шламів та їх основних компонентів, поглибилися знання про основні закономірності міграції компонентів бурових шламів у навколишньому середовищі, особливо в підземних (грунтових водах) та ґрунтогрунтах, відбулася переоцінка застосовуваних способів (технологій). З'явилися більш складні та досконалі способи та їх поєднання. Усі відомі технології переробки бурових

шламів за методами переробки можна поділити на такі групи:

- термічні - спалювання в відкритих амбарівах, печах різних типів, отримання бітумінозних залишків;
- фізичні – поховання у спеціальних могильниках, поділ у відцентровому полі, вакуумне фільтрування та фільтрування під тиском;
- хімічні – екстрагування за допомогою розчинників, затвердіння із застосуванням цементу, рідкого скла, глини та органічних (епоксидні та полістирольні смоли, поліуретани та ін) добавок;
- фізико-хімічні - Застосування спеціально підібраних реагентів, що змінюють фізико-хімічні властивості, з подальшою обробкою на спеціальному устаткуванні;
- біологічні – мікробіологічне розкладання у ґрунті безпосередньо у місцях зберігання, біотермічне розкладання.

Насправді методи комбінуються й у залежність від оснащеності та цілей підприємства утилізуються різними способами. Головним завданням на сьогоднішній день стає безвідходне Виробництво. Система збору та зберігання відходів, що застосовується в даний час, не забезпечує надійного захисту природних об'єктів від забруднення. [10].

Аналіз науково-технічної та патентної літератури з проблеми переробки бурових шламів показує, що існує безліч способів утилізації відходів буріння, проте в даний час більшість з них зводиться до поховання або розміщення бурових відходів на території бурової або спеціально відведених місцях (шламосховища, земляні амбаріви і т.д.).

Поховання у шламовому амбаріві на кущових майданчиках. Для збору та розміщення бурового шламу передбачається будівництво шламових амбарів на території кущових основ. Дозволяє швидко та на місцях утилізувати бурові відходи, забезпечуючи поховання продуктів, що утворюються при руйнуванні гірських порід вибою та стінок свердловини. Передбачає після закінчення експлуатації роботи з відновлення земель, засипання шламових амбарів ґрунтом до рівня поверхні майданчика з подальшою рекультивацією [11].

Процес ліквідації амбаріва з наступною утилізацією бурового шламу можна умовно розділити на наступні технологічні стадії:

- збір нафтовий плівки з поверхні амбаріви;
- очищення рідкої фази від емульгованої нафти; - доочищення рідкої фази (ступінь очищення залежить від подальшого використання очищеної води);
- зневоднення та знешкодження бурового шламу; - утилізація бурового шламу;
- очищення нафтозабрудненого ґрунту.

Таким чином, весь технологічний процес ліквідації шламового амбаріва проводиться у два етапи: 1) очищення та знешкодження вмісту амбаріви; 2) власне утилізація бурового шламу. Перший етап повинен проводитися з урахуванням особливостей складу відходів, що у шламовому амбаріві [12].

Спалювання бурового шламу на установці термічного знешкодження. Для цієї мети пропонується модуль центрифугування бурового шламу, він призначений для зневоднення бурових нафтошламів при застосуванні бурових розчинів на олійній основі за рахунок використання відцентрової сили. Наочною схемою даного процесу є отримання забрудненого бурового шламу; відмивання його від нафтовуглеводнів гарячою водою та парою, водним розчином ПАР на основі етоксилатів; знешкодження на центрифугі; осушення та інкапсулювання; очищення на установках водної фази, що утворилася. нафтовуглеводні; закінчення процесу – транспортування до місця утилізації.

Накопичення та переробка шламів на шламонакопичувачі бурових шламів. Будівництво шламонакопичувача бурових шламів для централізованого збору, накопичення та знешкодження бурового шламу. Відходи буріння, що утворюються, після системи очищення на місці їх утворення вивозяться за допомогою самоскидів з куців на спеціально обладнаний шламонакопичувач.

Зараз проводяться дослідження з напрямку використання біологічних препаратів, що розвивається, результати апробуються на різноманітних нафтовидобувних і переробних підприємствах. Принцип дії біологічних препаратів заснований на використанні вуглеводнів окислювальних.

мікроорганізмів і добавок мінеральних комплексів, а також окислюються біосорбентів. Безвідходне виробництво у цьому напрямі забезпечується з допомогою використання отриманих товарів у сільське господарство як і добрив. Добрива утворюються при використанні мікроорганізмів-деструкторів. За сприятливих умов середовища (температура, мінералізація, рН, мінеральне харчування) вдало підібрана культура або суміш штамів здатні за короткий час утилізувати нафтові забруднення в органічне добриво.

Перспективним підходом є використання бурових шламів як вихідна сировина для отримання будівельних матеріалів, ґрунтових сумішей, матеріалів для відсипання внутрішньопромислових доріг та бурових майданчиків. Однак за практичної реалізації даних підходів виникає низка труднощів.

В останні роки нафтовидобувними підприємствами в виробництво впроваджуються різні технологічні рішення, створені задля утилізацію відходів буріння. Однак уніфікованого способу переробки бурових шламів з метою знешкодження та утилізації не існує [11].

Гіпроморнафтогазом проведено дослідження з окислення та гідрофобізації шламу. Окислювачем служив перекис водню, оптимальна концентрація якої становила близько 20%. Гідрофобізація частинок бурового шламу спрямована на зменшення дифузії органічних речовин із поверхні шламу. Як гідрофобізуючої речовини була випробувана натрієва сіль сополімеру малеїнового ангідриду зі стиролом у присутності електролітів. Після обробки шлама дифузія органіки з його поверхні в 25 разів нижче за встановлені токсичні дози, а токсичність бурового шламу зменшується приблизно в 100 разів [13].

Термічний метод нейтралізації бурового шламу вважається найбільш ефективним та практично доступним. Дослідження, виконані в Гіпроморнафтогазі, показали, що при концентрації звичайного необпаленого шламу в морський воді вище 0,5 г/л середа Проживання для організмів моря стає небезпечним. При прожарюванні ж шламу при температурі 300 °С токсичність шламу знижується в 10 раз, а при 500 °С шлам знешкоджується повністю. Тестом, проведеним на молоді лосося, дуже чутливою до токсичних впливам,

встановлена нешкідливість довкілля при концентрації обпаленого шламу в морській воді до 1000 г/л. При цьому виживання лосося, інтенсивність харчування, фізіологічні та біохімічні показники крові практично не відрізнялися від контрольних. Аналізи води Каспійського моря також вказують на незначні зміни її гідрохімічного складу під впливом прожареного шламу [14].

Американською фірмою Hughes Drilling Fluids розроблено автономне встановлення для очищення та переробки шламу у разі застосування бурових розчинів на нафтовій основі. Установа складається з вакуумно-дистиляційного блоку, призначеного для переробки шламу, та комп'ютерного блоку управління. Шлам, що надходить у блок переробки, попередньо подрібнюється у спеціальному гідропривідному млині до отримання частинок розміром 100-200 мкм. Порошок, що утворюється, потім піддають прогріву в роторній печі до 350 °С. При цьому відбувається випаровування води, дизельного палива і хімреагентів. У перегінній секції створюється вакуум. Пари конденсуються в теплообміннику і рідка фаза, що утворюється, у вигляді дизпалива і хімреагентів повертається в циркуляційну систему. Порошкоподібний шлам, що містить 1% забруднюючих компонентів, прямує у викидну лінію для скидання у відходи. Весь процес переробки та очищення шламу автоматизований. Робочий цикл переробки та очищення 2 т шламу триває 30 хв. [15].

У США сконструйовано та випробувано пересувну установку з термічної обробки шламу. Стоки потрапляють спочатку до першої секції – шламової амбаріви, де осідає значна частина механічних домішок, а потім рідка частина відходів перетікає во другу секцію - накопичувальний амбаріву. У пласти, що поглинають, закачуються відходи з накопичувального амбаріви. Тверді відходи, що залишилися в котловані (буровий шлам, що випали в осад суспензії) засипаються мінеральним ґрунтом при рекультивації площі [16].

Таким чином, нафтовидобувним підприємствам для покращення екологічної ситуації та для зниження екологічних збитків слід здійснювати переробку бурових шламів комплексними методами, заснованими на залучення їх до виробничих циклів для отримання будівельних та інших матеріалів.

## 1.4 Висновки до розділу 1. Мета та задачі дослідження

1. В результаті аналізу літературних джерел встановлено, Буровий шлам є складним багатокомпонентним техногенним відходом із високим токсикологічним потенціалом. У його складі виявлено 40–70 забруднювачів, включаючи до 5,5% нафти, 2000–13880 мг/кг нафтопродуктів, токсичні реагенти та важкі метали (Pb, Cd, Ni, Zn). Значний вміст бентоніту, парафіно-нафтових фракцій (41,7%), солей, лужний рН (8,5–10,5) та в'язкість 0,11–4,55 Па·с визначають складність обробки й низьку здатність до природного самоочищення.

2. Шламові амбари поступово забруднюють довкілля: фільтрація токсикантів у ґрунт відбувається на глибину до 80 м, формуючи осередки засолення, нафтового та важкометального забруднення. Після потрапляння на поверхню ґрунту відновлення рослинного покриву є вкрай тривалим – менше 50% через 15 років, що підтверджує стійкість органічних та мінеральних токсикантів до природного розкладання.

3. Зберігання та поховання у земляних амбарах залишаються домінуючими, але вони не мають надійної гідроізоляції та формують довготривалі джерела забруднення. Оцінка шкідливості лише за хімічним складом не дає реального уявлення про сумарний токсичний ефект, оскільки забруднювачі діють синергічно та накопичуються у трофічних ланцюгах.

4. Ефективними вважаються комбіновані методи – термічні, фізико-хімічні, хімічні та біологічні. Термічне прожарювання при 300–500 °С знижує токсичність шламу у 10–100 разів, тоді як мікробіологічні методи забезпечують біодеструкцію вуглеводнів. Для об'єктивної оцінки небезпечності необхідне впровадження біотестування, яке враховує інтегральну токсичність та вплив шламу на живі організми різних трофічних рівнів.

**Метою роботи** є оцінити токсичність бурових шламів різних нафтових родовищ України за допомогою методів біотестування та встановити рівень їх екологічної небезпечності.

**Основні завдання дослідження:**

- Проаналізувати хімічний склад, фізико-механічні властивості та екологічні ризики бурових шламів.
- Вивчити теоретичні основи біотестування та обґрунтувати вибір модельних тест-організмів для визначення токсичності.
- Розробити та застосувати експериментальні методики біотестування, включаючи визначення гострої, хронічної та мутагенної токсичності.
- Провести лабораторне біотестування бурових шламів із використанням *Drosophila melanogaster* та інших модельних організмів.
- Виконати еколого-геохімічну інтерпретацію результатів та сформулювати класи токсичності бурових шламів з відповідними рекомендаціями щодо їх утилізації

– .

## **РОЗДІЛ 2 МЕТОДИ БІОТЕСТУВАННЯ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ БУРОВИХ ВІДХОДІВ**

### **2.1 Теоретичні основи біотестування та вибір тест-організмів**

Біотестування – це експериментальне визначення впливу факторів (фізичних, хімічних, фізико-хімічних) на живі організми шляхом реєстрації змін біологічних показників (фізіологічних, біохімічних, цитогенетичних) у тест-об'єктів порівняно з контрольною групою. На відміну від біоіндикації, яка вивчає організми у природних умовах, біотестування проводиться в лабораторних умовах із використанням стандартизованих протоколів та генетично однакових організмів.

Принципова перевага методу полягає в отриманні комплексної оцінки токсичності матеріалу без необхідності аналізу кожного компонента окремо. Це дозволяє виявити синергічні та антагоністичні взаємодії між забруднювачами, що неможливо визначити хімічними методами аналізу.

Біотестування можливо проводити на популяційно-видовому, організмовому, органо-тканинному, клітинному, субклітинному та молекулярному рівнях. На організмовому рівні, якому присвячено дану роботу, реєструються інтегральні відповіді цілого організму на токсичний вплив. На вищих рівнях (популяційному, екосистемному) моделюються модельні екосистеми різного масштабу: макрокосми, мезокосми та мікрокосми.

Тест-організм – це чутливий біологічний елемент, здатний реагувати на зовнішній вплив специфічною зміною своїх параметрів. До тест-організму висуваються такі вимоги:

Організм повинен бути чутливим до досліджуваних забруднювачів та демонструвати відтворювані та вимірювані тест-реакції. Крім того, вид має бути легким у розведенні та утриманні в лабораторних умовах, иметь короткий життєвий цикл для прискорення досліджень та мати екологічне значення для оцінки якості природних або техногенних середовищ.

Стандартизація методик передбачає використання генотипу однакових організмів, вирощених в ідентичних умовах, що мінімізує біологічну мінливість результатів та підвищує надійність висновків.

У практиці біотестування виділяють тест-реакції за часом впливу та характером спостережень. За тривалістю розрізняють гострі тести (менше 96 годин), які виявляють негайні летальні ефекти, та хронічні тести (більше 96 годин), у яких враховується адаптація організмів та кумулятивні ефекти. За характером реакцій розрізняють смертність, плодючість, репродуктивні розлади, морфологічні аномалії та поведінкові зміни.

## **2.2 Методика визначення токсичності середовищ різними тест-об'єктами**

Комплексна оцінка токсичності бурових шламів вимагає використання декількох тест-організмів з різних систематичних груп. Така багатовидова система забезпечує виявлення диференціальної токсичності, коли забруднювач може виявляти різну дію на різні організми залежно від їх фізіології, способу харчування та матаболічних особливостей.

«Базовий набір таксонів» включає водорості, макрофіти, ракоподібні та риби, які відображають рівні автотрофів, консументів першого та другого порядків. Це дозволяє прогнозувати наслідки забруднення на всі трофічні рівні екосистеми (табл. 2.1).

Гостре біотестування передбачає короткотермінову експозицію тест-організмів (24–96 годин) до досліджуваного матеріалу з реєстрацією смертності та грубих морфологічних змін. Для проведення експерименту готують серію розведень досліджуваного матеріалу (зазвичай 0 %, 10 %, 25 %, 50 %, 100 %). Контрольну групу утримують в ідентичних умовах без додавання токсиканта.

Кожну концентрацію тестують на мінімум 10–20 особин за три паралельних повторення. При 50 % та більшій смертності в дослідній групі порівняно з контролем робиться висновок про наявність гострої токсичної дії.

Результати обробляють статистичними методами з розрахунком LC50 (летальна концентрація для 50 % популяції).

Таблиця 2.1 – Характеристика основних тест-систем та їх параметри

Тест-організм	Систематична група	Тривалість тесту	Основні тест-реакції	Чутливість	Сфера застосування
Водорості ( <i>Scenedesmus</i> )	Фітопланктон	72 години	Гальмування росту, знебарвлення хлорофілу	Низька-середня	Органічні токсиканти, важкі метали
Цибуля звичайна ( <i>Allium cepa</i> )	Вищі рослини	5-7 днів	Пророщування корінців, мітотичні аномалії	Середня	Ґрунтові забруднення, фітотоксичність
Дафнії ( <i>Daphnia magna</i> )	Ракоподібні	24-48 годин	Смертність, пухлення, рухова активність	Висока	Вода, гідрофільні забруднювачі, ПАВ
Цериодафнії ( <i>Ceriodaphnia affinis</i> )	Ракоподібні	7-8 днів	Плодючість, розвиток молоді	Висока	Хронічна токсичність, кумуляція
Риба данія-зебра ( <i>Danio rerio</i> )	Риби	10-14 днів	Смертність, затримка розвитку, морфози	Висока	Гостра токсичність, морфогенез
Інфузорія ( <i>Tetrahymena</i> )	Протисти	30-60 хвилин	Зміна рухової активності	Дуже висока	Експресна оцінка, швидкі тести
<i>Drosophila melanogaster</i>	Комахи	10-14 днів	Смертність, статева структура, морфози	Висока	Мутагенні ефекти, хронічна дія

Хронічне біотестування передбачає довготермінову експозицію (від 5 днів до кількох тижнів) до низьких концентрацій токсиканта з реєстрацією сублетальних ефектів: затримка росту, зниження плодючості, морфологічні аномалії, порушення поведінки. Цей підхід більш точно моделює природні умови забруднення, коли організми піддаються постійному впливу низьких доз токсикантів.

У хронічних тестах більш виявляються адаптивні механізми та кумулятивні ефекти, які не видно в гострих тестах. Для ракоподібних реєструється кількість потомства; для риб – затримка розвитку та частота аномалій; для рослин – довжина коренів та наземної частини (рис. 2.1).

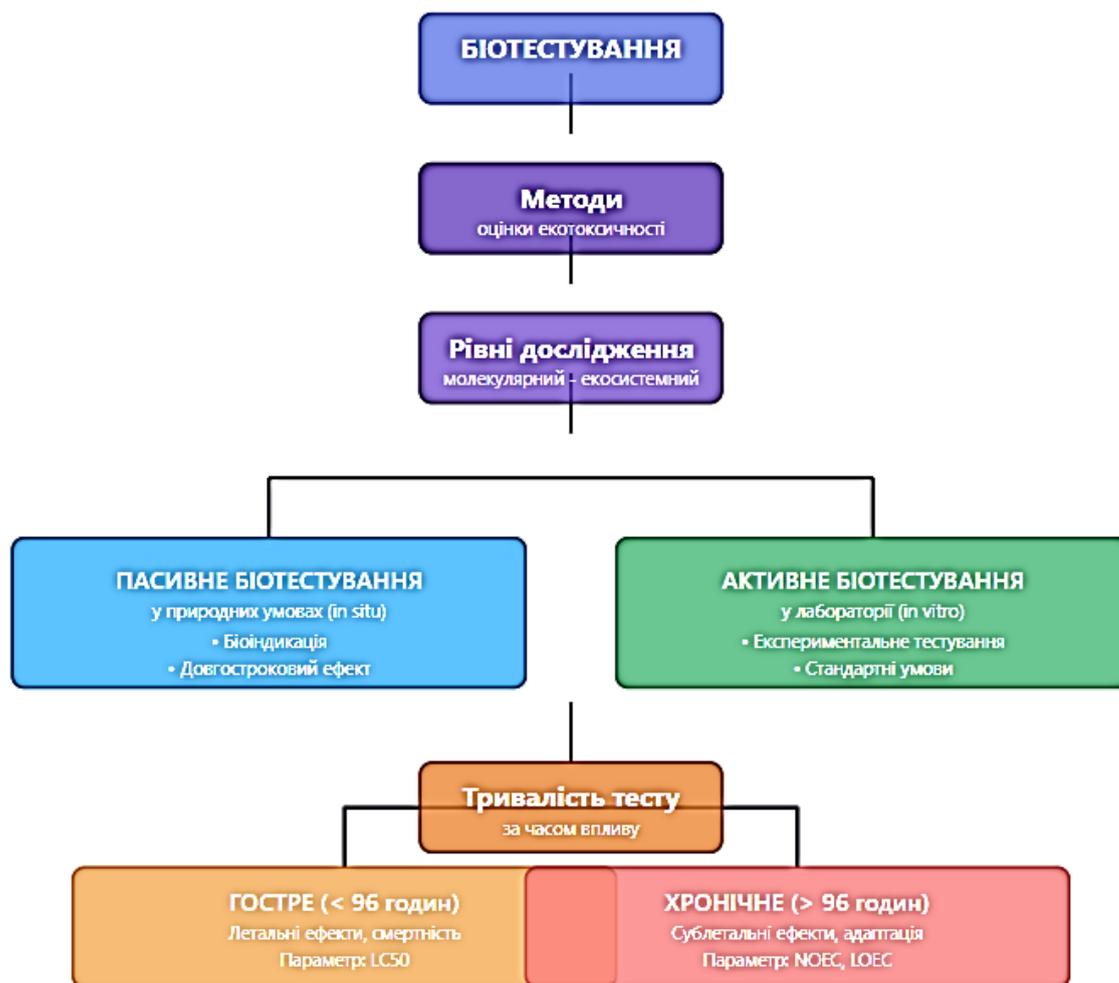


Рисунок 2.1 – Класифікація методів біотестування та їх характеристики

Основним показником у гострих тестах є LC50 – концентрація токсиканта, яка викликає смертність 50 % тест-організмів за певний період. На основі LC50 розраховується індекс токсичності (ІТ):  $IT = 100/LC50$ , де LC50 виражена у відсотках концентрації.

Організми класифікуються за чутливістю до тесту: не токсичні ( $IT \leq 1$ ), токсичні ( $1 < IT \leq 10$ ), висока токсичність ( $IT > 10$ ). Для хронічних тестів використовуються пороги впливу – найнижчі концентрації, що викликають статистично значущі ефекти.

При оцінці комплексної токсичності матеріалу результати різних тест-організмів інтегрують за принципом найбільшої чутливості: якщо один організм показує токсичність, матеріал визнається токсичним, незалежно від результатів інших тестів (табл. 2.2).

Таблиця 2.2 – Критерії токсичності за результатами біотестування

Клас токсичності	Індекс токсичності (ІТ)	Смертність (%)	Характеристика	Рекомендація
I – Нетоксичні	$IT \leq 1$	< 10	Відсутня вірогідна дія	Допустиме захоронення з моніторингом
II – Малотоксичні	$1 < IT \leq 3$	10–30	Слабка дія на чутливі організми	Фізико-хімічна обробка перед утилізацією
III – Помірно токсичні	$3 < IT \leq 10$	30–60	Виражена токсична дія	Обов'язкова обробка та контроль
IV – Токсичні	$IT > 10$	> 60	Висока токсичність	Термічна обробка, герметичне захоронення

### 2.3 Біотестування з використанням *Drosophila melanogaster*

*Drosophila melanogaster* (мушка дрозофіла) становить один з найбільш вживаних модельних організмів у біології, генетиці та токсикології упродовж більше ста років. Цей організм став революційним інструментом у науці після робіт Томаса Ганта Моргана на початку ХХ століття, які встановили законів спадковості та локалізації генів у хромосомах. У сучасній екотоксикології дрозофіла широко застосовується для виявлення мутагенної дії забруднювачів та оцінки репродуктивної токсичності хімічних речовин та змішаних середовищ.

*Drosophila melanogaster* характеризується коротким життєвим циклом тривалістю всього 10–12 днів при оптимальній температурі 25°C. За цей час комаха проходить повний метаморфоз: від яйця через личинкові (L1, L2, L3) та лялечкові стадії до виходу дорослої особини (імаго). Така короткочасність розвитку дозволяє за допомогою одного експерименту отримати дані про кілька поколінь (F1, F2, F3), що робить можливим дослідження спадкових ефектів та кумулятивної токсичності.

Геном дрозофіли складається з 180 мільйонів пар основ і був повністю секвенован у 2000 році. Маючи лише чотири пари хромосом (на відміну від людини, яка має 23 пари), дрозофіла дозволяє легко відслідковувати спадковість

ознак та виявляти летальні мутації. Геномна подібність дрозофіли та людини становить 75 % на рівні білкодіяльних генів, що робить результати дослідження на дрозофілі екстраполюючими на людину та вищих тварин.

Дрозофіла не вибаглива до живильного середовища та легко розводиться у простих скляних або пластикових посудинах об'ємом 100–150 мл. Вартість утримання однієї культури мінімальна, оскільки комаха харчується недорогим синтетичним живильним середовищем, що складається з основних компонентів: агар-агару, дріжджів, манної крупи, цукру та води.

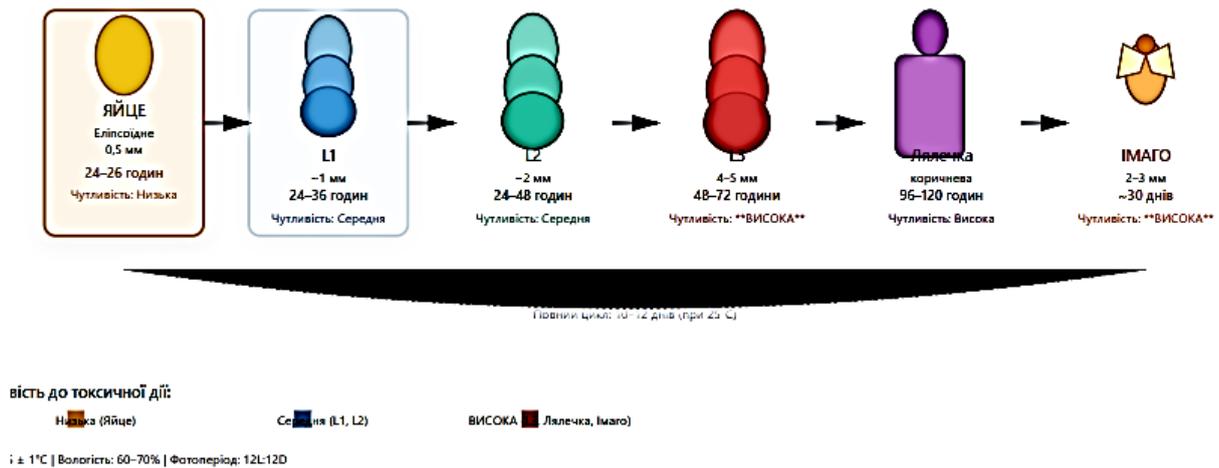
На відміну від дорогих в утриманні видів (риб, ссавців), дрозофіла займає мало місця в лабораторії та не потребує спеціального видалення відходів. Один дослідник може одночасно вести 100–200 культур без значних матеріальних та часових витрат. Крім того, методи роботи з дрозофілою повністю стандартизовані в міжнародній практиці, що забезпечує порівнянність результатів між лабораторіями та країнами.

Дорослу мушку дрозофіли розміром 2–3 мм складається з голови, грудей та черевця. На голові розташовані великі складні очі, крихітні простіюклі (ocelli), довгі щетинки та ротовий апарат ліктічного типу. На грудях знаходяться одна пара крил та три пари ніг, які служать для локомоції та балансування під час польоту.

Черевце (abdomen) складається з восьми видимих сегментів (тергітів та стернітів) та розташованих на ньому численних щетинок та волосків, які служать сенсорними рецепторами. Ці щетинки мають назви за розташуванням: anterior dorsocentral (ADC), posterior dorsocentral (PDC), intra-alar, supra-alar тощо – і використовуються при морфологічній класифікації мутацій.

На відміну від людини та більшості ссавців, у дрозофіли система визначення статі основана не на Y-хромосомі, а на числовому співвідношенні X-хромосом до комплектів аутосом (X:A ratio). Це співвідношення дорівнює 1,0 у самок (XX,  $2n=8$ ) та 0,5 у самців (XY,  $2n=8$ ).

При виході з лялечки статева диференціація вже закінчена, та морфологічні ознаки статі чітко видні під мікроскопом. Це робить простим і надійним визначення статі навіть для великої кількості особин (рис. 2.2).



**Ключові характеристики розвитку:**

- Повна метаморфоза**  
Дрософіла проходить 4 чіткі стадії: яйце → личинка (L1-L3) → лялечка → імаго
- Короткий цикл**  
Повний розвиток за 10–12 днів дозволяє швидко отримати кілька поколінь
- Критичні стадії**  
L3 та імаго найчутливіші до мутагенів через активний поділ та диференціацію клітин
- Визначення статі**  
Морфологічні різниці видні одразу після виходу імаго, виявляються під мікроскопом

Рисунок 2.2 – Життєвий цикл *Drosophila melanogaster* та стадії розвитку

Лінія yellow (*y*) – це класична мутація, яка впливає на синтез меланіну та ксантоматину, пігментів, відповідальних за забарвлення. У гомозиготних самок та гемізіготних самців (у яких ген локалізований на X-хромосомі) спостерігається жовте забарвлення тіла замість норми коричневого. Щетинки та крила залишаються світлішими, ніж у нормальних мух. Ця мутація є X-зв'язаною, тому самці з генотипом у проявляють фенотип, а самки проявляють його лише якщо гомозиготні (*y/y*).

Лінія singed (*sn*) характеризується деформованістю щетинок та волосків, які замість гладких та прямих приймають хвилюваті, скручені форми. Це впливає на весь вовнистий покрив мухи, включаючи щетинки на голові, грудях та черевці. Мутація локалізована також на X-хромосомі. У самок singed забарвлення черевця менш інтенсивне, крила можуть мати дещо іншу форму.

Обидві лінії підтримуються в гомозиготному стані (у/у або sn/sn для самок; у або sn для самців), що забезпечує генетичну однорідність популяції та мінімізує варіацію фенотипу в контролі (табл. 2.3).

Таблиця 2.3 – Стадії розвитку дрозозфіли та їх чутливість до токсичного впливу

Стадія розвитку	Тривалість	Морфологічні ознаки	Чутливість до токсикантів	Спостережні критерії
Яйце	24–26 годин	Білий, еліпсоїдний, ~0,5 мм	Низька (захищене хоріоном)	% вилуплення
Особинка L1	24–36 годин	Білуватий, потрійний розподіл щетинок, ~1 мм	Середня	Живорож, активність
Особинка L2	24–48 годин	Білий, ~2 мм, більш розвинені щетинки	Середня	Мутація, загибель
Особинка L3	48–72 години	Білий, ~4–5 мм, активне харчування	Висока	Морфози, загибель
Лялечка	96–120 годин	Коричнева, бочкоподібна	Висока	Затримка розвитку
Імаго (дорослина)	~ 30 днів	2–3 мм, можна розрізнити стать	Висока (в період запліднення)	Смертність, стериль, мутації

Личинкові стадії (особливо L3) та період раннього розвитку імаго є найбільш чутливими до мутагенної дії токсикантів. Це пов'язано з активним поділом клітин та формуванням тканин, під час яких ДНК-аномалії можуть закріпитися в спадковості.

Смертність реєструється на кожній стадії розвитку: % невилупленого яйця, % загибелі личинок, % смертності на стадії лялечки та % смертності дорослих мух. Підвищена смертність на будь-якій стадії вказує на гостру токсичну дію матеріалу.

Середня тривалість життя (life span) дорослої мухи у контролі становить 25–30 днів при 25°C. При впливі токсичних речовин тривалість життя значно скорочується. Крім того, реєструється тривалість життя від вильоту до першого репродуктивного акту (pre-reproductive period), яка зазвичай становить 3–5 днів за норми.

Плодючість (fecundity) – кількість яєць, відкладених однією самкою протягом життя, – є чутливим показником репродуктивної токсичності. У

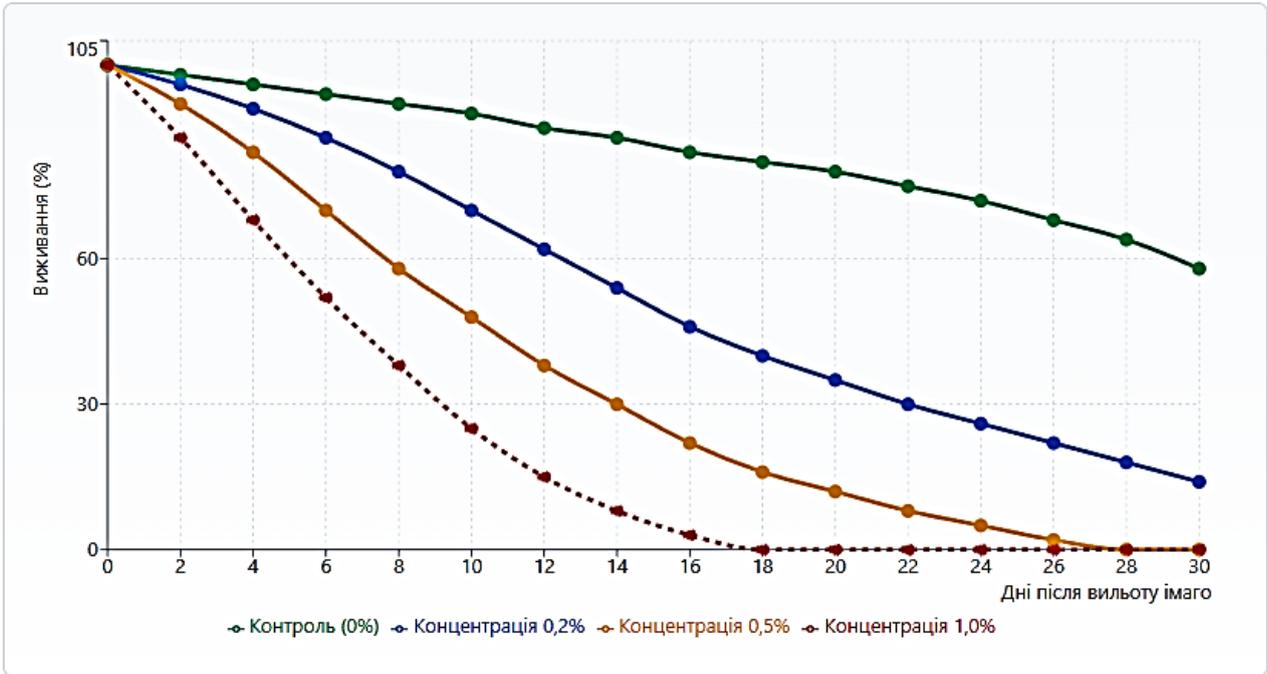
нормальних умовах одна самка може відкласти 150–200 яєць протягом 2–3 тижнів. При впливі токсичних факторів плодючість різко падає, часто стаючи нульовою.

Статеве співвідношення (sex ratio) – це один з найпотужніших індикаторів мутагенної дії матеріалу. У нормі при вільному схрещуванні виходить рівне співвідношення самців до самок  $\approx 1:1$ .

При впливу мутагена відбувається так звана X-linked recessive lethal mutation (XRLM) – летальні мутації на X-хромосомі, які призводять до загибелі самців (XY), у яких є мутантна X-хромосома. Самки (XX) з однією мутантною X-хромосомою залишаються живими, оскільки друга X-хромосома дикого типу компенсує дефект (табл. 2.5).

Таблиця 2.5 – Інтерпретація тест-реакцій при біотестуванні на *Drosophila melanogaster*

Тест-реакція	Контроль (норма)	Слабкий ефект	Середній ефект	Сильний ефект	Висновок про токсичність
Смертність яєць, %	< 5	5–15	15–40	> 40	Висока гостра дія
Смертність личинок, %	< 10	10–25	25–50	> 50	Критична токсичність L3
Смертність лялечок, %	< 5	5–20	20–40	> 40	Порушення метаморфозу
Смертність імаго, %	< 10	10–30	30–60	> 60	Критична хронічна дія
Середня тривалість життя, дні	25–30	15–20	10–15	< 10	Скорочення життя
Плодючість, яєць/самка	150–200	80–150	20–80	< 20	Репродуктивна токсичність
Морфози імаго, %	< 2	2–10	10–30	> 30	Порушення розвитку
Дефіцит самців, %	$\approx 0$	< 10	10–20	> 20	Мутагенна дія
$\chi^2$ при аналізі sex ratio	< 3,84	3,84–5,0	5,0–10	> 10	Статистично значуща дія



#### Методологія

Крива Карлап-Меєг показує ймовірність виживання популяції за часом. Кожна точка відповідає проценту особин, що залишилися живими на кожному дні спостереження. Крутизна кривої вказує на швидкість смертності.

#### Інтерпретація

Контроль (зелена лінія) показує природне старіння. Токсичні зразки демонструють скоротити тривалість життя і вищу смертність, особливо на ранніх стадіях розвитку.

#### Ключові показники

- Контроль: 58% виживання на день 30
- 0,2%: 14% виживання (лет. ефект)
- 0,5%: 0% на день 28
- 1,0%: 0% на день 18

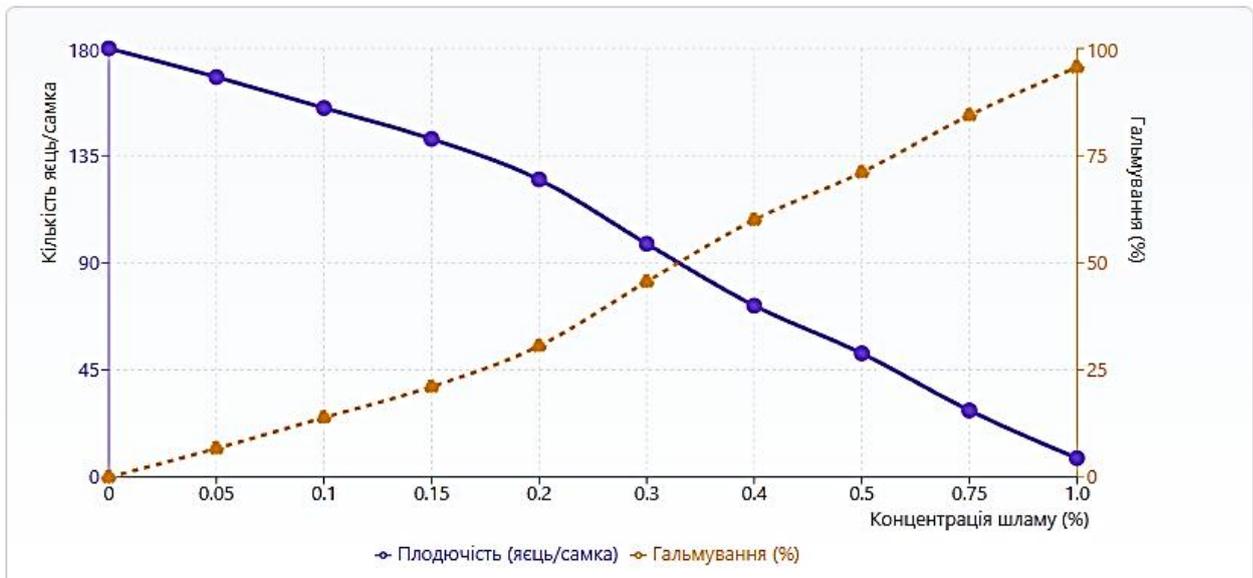
#### Висновок

Дозозалежний ефект: чим вища концентрація токсиканта, тим скоріше настає смертність. На концентрації 1,0% всі мухи гинуть за 18 днів, що вказує на ВИСОКУ ТОКСИЧНІСТЬ.

#### Таблиця порівняння показників виживання

Показник	Контроль	0,2%	0,5%	1,0%
Вживання день 10 (%)	90%	70%	48%	25%
Вживання день 20 (%)	78%	35%	12%	0%
Середня тривалість життя (дні)	27–30	18–22	10–14	6–8
Оцінка токсичності	Норма	Низька	Середня	Висока

Графік 2.3 – Кумулятивна смертність *Drosophila melanogaster* під впливом токсичного середовища



#### ⚠️ Висновок

Репродуктивна токсичність виявляється вже при 0,05% концентрації. При концентрації 1,0% плодючість практично нульова, що свідчить про **КРИТИЧНУ РЕПРОДУКТИВНУ ТОКСИЧНІСТЬ**.

#### 📄 Таблиця параметрів dose-response

Концентрація (%)	Плодючість (яєць/самка)	Гальмування (%)	Оцінка
0	180	0.0	✓ Контроль
0.05	168	6.7	⚠️ NOEC
0.1	155	13.9	⚠️ NOEC
0.15	142	21.1	● Значна
0.2	125	30.6	● Значна
0.3	98	45.6	● Значна
0.4	72	60.0	● Значна
0.5	52	71.1	● Значна
0.75	28	84.4	● Критична
1.0	8	95.6	● Критична

#### 🔑 Легенда параметрів

##### Параметри кривої:

**Х вісь:** Концентрація токсиканта (%)

**У вісь ліва:** Кількість яєць на одну самку

**У вісь права:** Процент гальмування

##### Статистичні показники:

**NOEC:** 0,05% (без дії)

**LOEC:** 0,1% (перша дія)

**EC50:** 0,32% (50% гальм.)

Рисунок 2.4 – Залежність плодючості від концентрації токсиканта (dose-response curve)

Для забезпечення чистоти експерименту та виключення впливу попередніх спарювань необхідна використання так званих віргінальних (дівоцтво) самок, тобто самок, які ніколи не копулювали. На момент виходу з лялечки самка ще не готова до спарювання, але через 8–12 годин вже може прийняти самця.

Для отримання віргінальних самок застосовується така методика:

1. За 12–24 години до очікуваного масового вильоту видалити всіх дорослих мух з культури
2. Переглядати культуру кожні 6 годин
3. Аккуратно переносити свіжовилупленої самок в окремі флакони з живильним середовищем
4. Використовувати самок у віці 0–8 годин для схрещування

При схрещуванні 2–3 дівоцтво самок однієї лінії з рівною кількістю самців іншої лінії в одному флаконі утворюється батьківське покоління (P). Мухи містяться разом 3–5 днів, протягом яких самки активно відкладають яйця. Потім дорослі мухи видаляються, та спостерігається розвиток першого філіального покоління (F1).

F1 мухи гібридні та містять генетичну інформацію обох батьківських ліній. Вони демонструють домінантні ознаки обох батьків. При схрещуванні F1 між собою або з батьками утворюється F2 покоління, в якому розщеплюються ознаки, дозволяючи виявити летальні рецесивні мутації.

## **2.4 Методичні особливості оцінки токсичності бурових шламів**

Оцінка екоотоксичності бурових шламів становить один з найбільш складних та актуальних завдань у контексті збалансованого розвитку нафтогазової промисловості в Україні. На відміну від простих хімічних забруднювачів, буровий шлам представляє собою складну багатокомпонентну матрицю, де токсичне діяння визначається не лише присутністю окремих речовин, а й їх комбінованою дією, синергічними та антагоністичними взаємодіями.

Традиційні методи хімічної аналітики, спрямовані на визначення концентрацій окремих компонентів (важких металів, вуглеводнів, органічних добавок), не дають повної картини екологічної небезпеки матеріалу. Комплексна оцінка, заснована на біотестуванні, дозволяє врахувати всю множину факторів, що впливають на живі організми, та отримати інтегральну оцінку токсичності.

Методологія оцінки токсичності бурових шламів базується на принципі послідовного розкриття інформації про матеріал, починаючи з простих фізико-хімічних показників та переходячи до комплексної біотоксикологічної характеристики.

Етап 1 – Фізико-хімічна характеристика передбачає визначення:

- Гранулометричного складу (розподіл частинок за розміром)
- вмісту твердої фази та рідкої фази
- рН, провідності, солоності
- концентрацій основних токсичних компонентів (нафти, важких металів, хлоридів)

Етап 2 – Острі гідротоксикологічні тести проводяться на чутливих водних організмах (дафніях, рибах) для виявлення гострої летальної дії матеріалу. Результати цього етапу дозволяють отримати LC50 та класифікувати матеріал за гострою токсичністю.

Етап 3 – Хронічне біотестування на наземних моделях (*Drosophila melanogaster*, рослини) виявляє сублетальні ефекти, репродуктивну токсичність, мутагенність та порушення розвитку.

Етап 4 – Еколого-геохімічна інтегральна оцінка синтезує дані всіх попередніх етапів, встановлює класи токсичності та розробляє рекомендації щодо поводження з матеріалом.

Кожний тест-організм у системі біотестування виконує специфічну роль та характеризує окремий аспект токсичності матеріалу. Таблиця 2.6 демонструє, як різні організми комплементарно висвітлюють різні грані екотоксичності.

Таблиця 2.6 – Стратегія вибору модельних організмів для оцінки різних аспектів токсичності бурового шламу

Аспект токсичності	Типовий гідробіонт	Чутливість	Основна тест-реакція	Інформативність	Практична цінність
Гостра летальна дія	<i>Daphnia magna</i> (24–48 год)	Дуже висока	Смертність, іммобілізація	LC50, Індекс токсичності	Первинна оцінка
Хронічна водна токсичність	<i>Ceriodaphnia affinis</i> (7–8 днів)	Висока	Плодючість, розвиток молоді	NOEC, LOEC	Довгостроковий ефект
Ембріональна токсичність	<i>Danio rerio</i> (10–14 днів)	Висока	Аномалії розвитку, смертність	Морфогенетичні дефекти	Порушення онтогенезу
Фітотоксичність (наземна)	<i>Allium cepa</i> (5–7 днів)	Середня	Пророщування, цитогенетичні дефекти	Мітотичні індекси	Ґрунтова контаміція
Репродуктивна токсичність	<i>Drosophila melanogaster</i> (F2)	Висока	Плодючість, sex ratio	NOEC, мутагенна дія	Мутагенність
Генотоксичність	<i>Drosophila melanogaster</i> (тест SMART)	Дуже висока	Соматичні мутації в крилах	Частота мутацій/10000 клітин	Канцерогенний потенціал

Комбінована система з 3–4 тест-організмів дозволяє виявити 95–98% екотоксичних матеріалів, тоді як використання одного організму пропускає 30–50% токсичних проб.

Якість та репрезентативність результатів біотестування суттєво залежать від правильного відбору та обробки проб матеріалу. Бурові шлами мають відбиратися з різних місць накопичення (сховищ, шламових амбарів) у кількості не менше 5–10 окремих пунктів, які потім змішуються в один композитний зразок. Це необхідно для видалення локальної неоднорідності та отримання репрезентативної характеристики матеріалу.

Проби зберігаються при температурі 2–8°C у герметичних контейнерах упродовж не більше ніж 14 днів до проведення тестування. При більш тривалому зберіганні можуть відбутися хімічні та біологічні процеси, які змінять токсичність матеріалу: окислення органічних речовин, вихід розчинних компонентів, розвиток мікроорганізмів.

Найбільш поширеним методом отримання екстрактів для біотестування є приготування водних витяжок, які моделюють процеси вилуговування забруднювачів при контакті шламу з водою (дощовою, ґрунтовою, морською).

Стандартна методика:

1. Висушений до постійної маси буровий шлам дрібно подрібнюють у ступці до однорідного стану
2. Зважують 1 г подрібненого матеріалу на технічних терезах (точність  $\pm 0,01$  г)
3. Заливають 100 мл дистильованої води (без хлору, рН 6,5–7,5, провідність  $< 200$  мкСм/см)
4. Перемішують енергійно протягом 2 годин на шейкері (200–300 обертів/хв) при кімнатній температурі
5. Дають відстояти 24 години при 20°C
6. Фільтрують через паперовий фільтр (Whatman №1, пори 11 мкм) у стерильні флакони
7. Отримана витяжка становить 1 % концентрацію матеріалу

Отримана 1%-ва витяжка моделює концентрацію розчинних токсичних компонентів, що могли б мігрувати до навколишнього середовища при контакті шламу з водою.

Від вибору діапазону концентрацій для тестування суттєво залежить якість висновків про токсичність матеріалу. Занадто низькі концентрації можуть не виявити токсичного ефекту (false negative), а занадто високі – викликати неспецифічну смертність, не пов'язану з токсичністю матеріалу, а з фізичною травмою або осмотичним шоком (false positive).

Ряд концентрацій має охоплювати діапазон, де спостерігається 0–100 % ефекту (смертності, гальмування росту, порушень розвитку), з принаймні 4–5 проміжними точками для адекватної апроксимації криву dose-response (табл. 2.7).

Таблиця 2.7 – Параметри контролю якості при приготуванні витяжок

Параметр якості	Допустиме значення	Причина вимоги	Коригуючий захід
рН води	6,5–7,5	Різна розчинність при кислому/лужному середовищі	Буферизація розділеним розчином
Провідність води	< 200 мкСм/см	Вплив іонів на бактеріостаз та чутливість тестів	Дистиляція, деіонізація
Температура екстракції	18–22°C	Температурна залежність розчинності	Утримання в кліматичній камері
Тривалість перемішування	120 ± 10 хвилин	Баланс між екстракцією і дифузією	Шейкер з таймером
Час відстояння	24 ± 2 години	Завершення осадження та розподілу	Планування за розкладом
Тип фільтра	Целюлозні, без добавок	Забруднення целюлозою чи активованим вугіллям	Використовувати сертифіковані фільтри
Стерильність флаконів	За результатами 3-денного культивування	Забруднення мікроорганізмами при тестуванні	Автоклавування при 121°C, 15 хвилин

Два стратегічні підходи до конструювання рядів

Підхід 1 – Геометричний прогресивний ряд (найчастіше використовується):

Концентрації формуються за формулою:  $C(n) = C(0) \times q^{(n-1)}$ , де  $q$  – коефіцієнт прогресії (зазвичай 2, 2,5, 3 або 5).

Приклад ряду з  $q = 2$  і вихідною концентрацією 0,1%:

- 0,1% → 0,2% → 0,4% → 0,8% → 1,6%

Переваги: Рівномірний розподіл точок на логарифмічній шкалі, відповідає природі dose-response кривої.

Підхід 2 – Арифметичний ряд (для точної характеристики діапазону NOEC-LOEC):

Концентрації розташовуються на рівних інтервалах: 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,3 %

Переваги: Висока точність виявлення порогу токсичного впливу (NOEC/LOEC), кращо для нормування.

Алгоритм вибору діапазону концентрацій (рис. 2.5).

Крок 1: На основі хімічної аналітики та попередніх даних попередньо оцінити придатну концентрацію для першого скринінгового тесту (зазвичай 0,5–1,0% для шламу).

Крок 2: Провести гострий скринінговий тест на дафніях з концентраціями 0,1; 1; 10 % для грубого визначення LC50.

Крок 3: На основі результатів скринінгу сконструювати точний геометричний ряд, центрований на прогнозованому LC50.

Крок 4: Провести цей ряд у всіх організмах, переходити до дальших концентрацій відповідно до отриманих результатів.

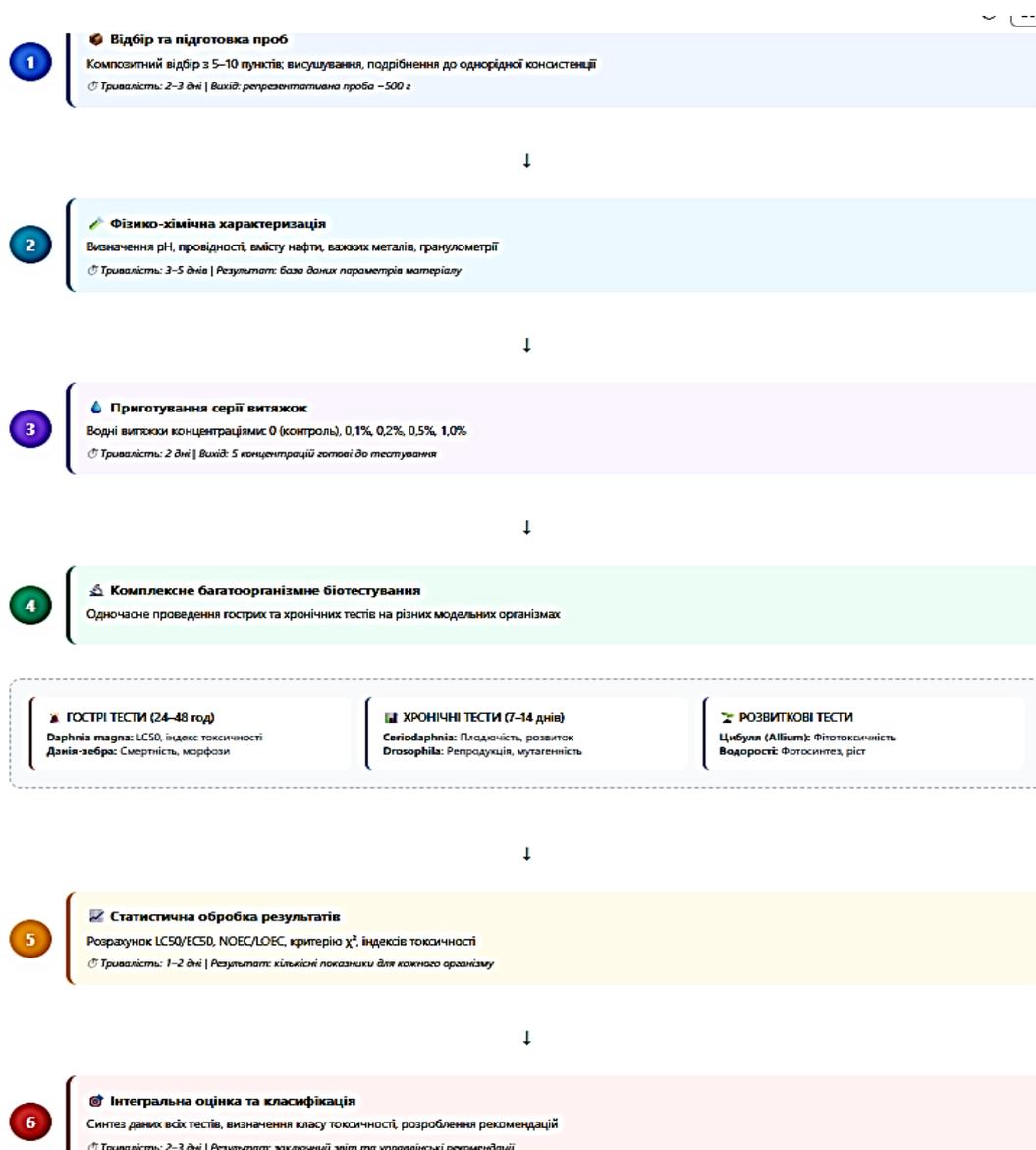


Рисунок 2.5 – Алгоритм проведення комплексної оцінки екотоксичності бурових шламів

Методика проведення базового гострого тесту на *Drosophila melanogaster*

Кроки підготовки (за 7–10 днів до експерименту):

1. Активізують лінії мух шляхом передачі на свіже живильне середовище
2. Вибирають обидві лінії (yellow і singed) у віці 10–12 днів від виходу імаго та помішають в екран при 25°C
3. Через 3–4 дні спостерігають масові вильоти молодих мух
4. Ізолюють віргінальних самок (0–8 годин від вильоту) в окремих флаконах
5. Утримують при 25°C до моменту схрещування

Таблиця 2.8 – Протокол реєстрації спостережень при біотестуванні на *D. melanogaster*

День експерименту	Стадія розвитку	Спостереження	Кількість особин (контроль)	Критичні показники
День 0	Яйце (свіжі)	Відкладання яєць самками	150–200 яєць на флакон	Рівномірність розкиду
День 1–2	Яйце (розвиток)	Видимі ембріональні рухи	95–98% живих яєць	Розриви хоріону
День 2–3	L1 личинка	Вилуплення, активне харчування	150–180 особин	Затримка вилуплення
День 3–5	L2 личинка	Лінька на L2, збільшення розміру	140–170 особин (85–90%)	Уповільнений розвиток
День 5–7	L3 личинка	Максимальне харчування, лінька на лялечку	130–160 особин (80–85%)	Морфози на L3
День 7–10	Лялечка	Метаморфоз, формування імаго	120–150 особин (70–80%)	Затримка на $\geq 2$ дні
День 10–12	Імаго (вхід)	Вихід мух, склеротизація	100–140 особин (60–70%)	Деформоване крило
День 12–14	Імаго (статева зрілість)	Проведення статева диференціація	100–140 особин	sex ratio аналіз

На рисунку 2.6 наведено зміну показників виживання тест-організмів у часі за різних концентрацій бурового шламу. Отримані результати свідчать про чітку

дозозалежну токсичну дію: зі зростанням концентрації шламу спостерігається зниження життєздатності організмів.

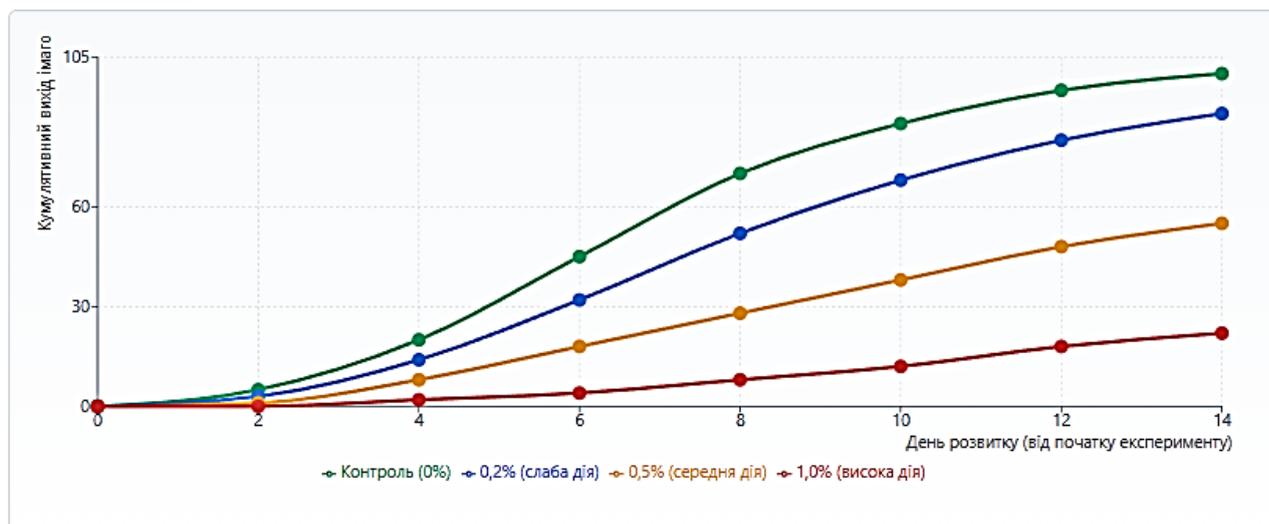


Рисунок 2.6 – Динаміка виживання тест-організмів залежно від концентрації бурового шламу

Зміна показників розвитку різних життєвих стадій *Drosophila melanogaster* залежно від концентрації бурового шламу в середовищі (рис. 2.7). Підвищення вмісту шламу призводить до зниження виживаності на всіх етапах розвитку, особливо на стадіях личинки та лялечки.

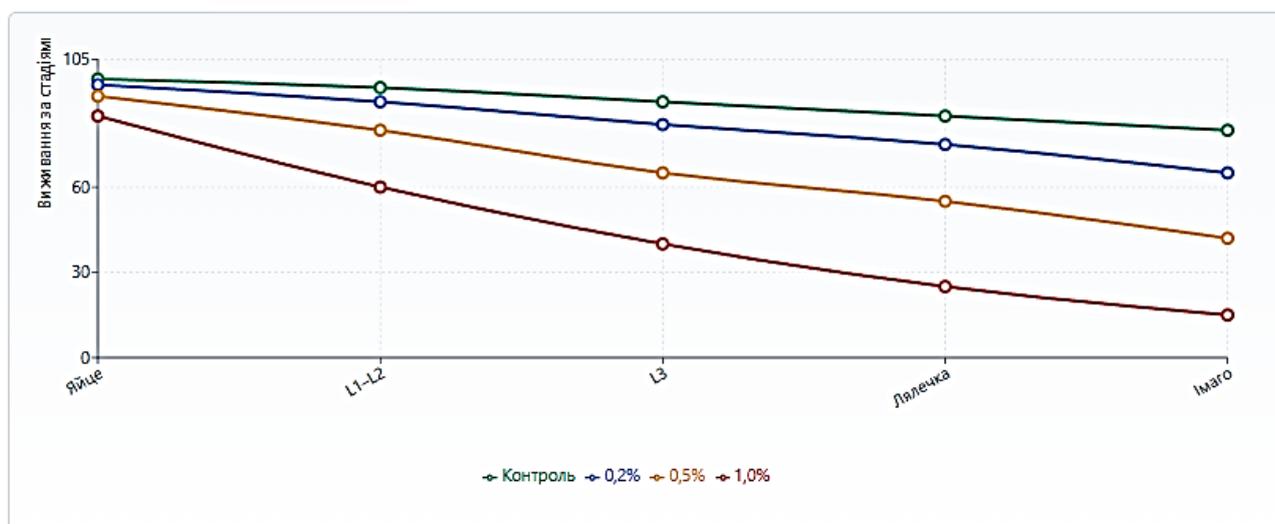


Рисунок 2.7 – Вплив концентрації бурового шламу на розвиток життєвих стадій *Drosophila melanogaster*

## 2.5 Висновки до розділу 2

1. Біотестування є ефективним методом інтегральної оцінки токсичності бурових відходів, оскільки дозволяє реєструвати комплексну біологічну реакцію організмів на суміш забруднювачів, враховуючи синергічні та кумулятивні ефекти. Використання стандартизованих тест-організмів з різних систематичних груп забезпечує високу відтворюваність результатів і дає можливість оцінити токсичність на різних трофічних рівнях екосистеми.

2. Методики гострого та хронічного біотестування дозволяють визначати як летальні, так і сублетальні ефекти, включаючи порушення розвитку, репродукції та поведінки тест-організмів. Визначення таких показників, як LC50 та індекс токсичності, забезпечує об'єктивну класифікацію токсичності бурових відходів і підвищує точність екологічної оцінки.

3. Біотестування на *Drosophila melanogaster* показує високу чутливість модельного організму до токсичних компонентів бурових шламів: при концентраціях 1–5 % у водній витяжці смертність личинок L3 може зростати з контрольних 10–15 % до 40–70 %, а смертність на стадії лялечки – до 60 %. Завдяки короткому життєвому циклу (10–12 днів) та можливості реєструвати відповідь кількох поколінь результати дозволяють оперативно визначати рівень гострої та хронічної токсичності.

4. Репродуктивні показники дрозофіли значно реагують на токсичний вплив: плодючість самок знижується з контрольних 150–200 яєць до 20–80 яєць залежно від концентрації токсиканта, а відхилення у статевому співвідношенні сягає 10–25 % дефіциту самців, що вказує на мутагенну дію за механізмом X-linked lethal.

5. Стадії розвитку личинок L3, лялечки та раннього імаго є найбільш чутливими до токсичних речовин, що дозволяє точно визначати порogi токсичності, включаючи LC50, NOEC і мутагенні ефекти. Отже, застосування *D. melanogaster* забезпечує комплексну оцінку токсичності, яка доповнює традиційні водні та ґрунтові тести.

Всі групи утримувалися за однакових стандартних умов температури ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ), вологості ( $60 \pm 5\%$ ) та фотоперіоду (12:12 годин).

Спостереження за розвитком мушок проводилося щоденно впродовж повного життєвого циклу та включало:

- Життєздатність імаго – визначення рівня смертності на різних стадіях розвитку
- Темпи розвитку – тривалість період від яйця до виходу імаго
- Морфологічні зміни – виявлення патологічних змін зовнішнього вигляду (деформації крил, щетинок, розмірів тіла)
- Співвідношення статей – порівняння з контрольною групою
- Фертильність – плідність дорослих особин у поколіннях F1 та F2

Таблиця 3.1 – Умови проведення біотестування та експериментальні параметри дослідження токсичності бурового шламу

Параметр	Контроль	Дослід
Кількість особин на групу	50–100	50–100
Лінії дрозофіл	yellow ( <i>y</i> ), singed ( <i>sn</i> )	yellow ( <i>y</i> ), singed ( <i>sn</i> )
Концентрація шламу, %	0	0,2
Температура утримання, °C	$25 \pm 1$	$25 \pm 1$
Період спостереження	Повний життєвий цикл (~10 днів)	Повний життєвий цикл (~10 днів)
Кількість поколінь, що аналізувалися	F1, F2	F1, F2

Результати експериментів обробляли методами описової та аналітичної статистики з використанням критеріїв  $\chi^2$  (хі-квадрат) для аналізу якісних показників та t-тесту для порівняння кількісних параметрів. Рівень статистичної значущості приймався  $p < 0,05$ .

### 3.2 Матеріали, обладнання та методики проведення досліджень

Живильне середовище для розведення *Drosophila melanogaster* складається з основних компонентів, що забезпечують повноцінний розвиток комах. Цукор є

енергетичним субстратом, на якому розвиваються дріжджі, які служать основним джерелом білків та виконують протигрибкову функцію. Агар-агар надає середовищу необхідну консистенцію, запобігаючи його розрідженню та вибіганню з посуду.

Крім обов'язкових компонентів, до складу живильного середовища можуть входити манна крупа, кукурудзяне борошно, бананова мякiсть, що послаблює консистенцію та покращує живлення личинок.

Таблиця 3.2 – Рецепт розрахункового живильного середовища

Компонент	На малу серію (мл/г)	На велику серію (мл/г)
Вода	100 мл	350 мл
Агар-агар	1,3 г	4,5 г
Дріжджі (свіжі)	11,4 г	40 г
Манна крупа	4,3 г	15 г
Цукор	3,7 г	13 г
Пропіонова кислота	0,3 мл	1 мл

Кількість агар-агару може коригуватися залежно від якості та типу середовища. Консистенція має бути оптимальною – достатньо щільною, щоб не витікала з посуду, але досить м'якою, щоб личинки легко пересувалися в середовищі.

Методика приготування (класичний спосіб)

1. На технічних терезах відважити необхідну кількість агар-агару та інших компонентів.
2. Залити агар-агар водою при періодичному помішуванні та довести до кипіння на водяній бані (алюмінієвий посуд) до повного розчинення.
3. Варити на водяній бані протягом 40 хвилин, періодично доливаючи воду до початкового рівня під час випарювання.
4. Додати дріжджі та манну крупу одночасно, варити ще 15 хвилин до повного розварювання манки.
5. Трохи охолодити середовище до температури 60°C.

6. Додати пропіонову кислоту (консервант, що запобігає плісняванню) та ретельно перемішати.

7. Розлити по пеніцилінових флаконах по 3 мл середовища (висота шару 1–1,5 см).

8. Після остигання посіяти дріжджі: розвести свіжі дріжджі у воді до консистенції молока та м'яким пензлом змазати всю поверхню середовища.

За відсутності свіжих дріжджів можна використовувати сухі дріжджі, враховуючи, що у свіжих вони містять 75% води. Середовище зберігається у флаконах кілька днів; краще використовувати свіжоприготоване середовище через 24 години, щоб запобігти прилипанню мух. Для закривання флаконів використовуються ватні пробки або поролон.

Альтернативна методика приготування (мікрохвильова піч)

1. Залити воду в посуд для мікрохвильової печі та довести до кипіння (потужність 800 W).

2. Додати свіжі дріжджі, добре розмішати та дати постояти 5 хвилин. Набрати шприцем 5 мл суміші та відкласти для пункту 5.

3. До суміші, що перемішується, висипати агар-агар, манку та цукор; варити при потужності 600–800 W до закипання (щоб манка повністю розварилася), перемішувати 1–2 рази.

4. Остудити середовище до 60°C, додати пропіонову кислоту та ретельно перемішати.

5. Розлити по пеніцилінових флаконах та додати в кожен по 1 краплі суміші дріжджів з шприца.

6. Закрити флакони ватними пробками.

7. За можливості дати відстоятися за кімнатної температури 1–2 години, потім поставити в холодильник.

Для наркотизації використовують сірчаний ефір (ефір для наркозу). Рідкий ефір при прямому попаданні на мух миттєво їх вбиває, тому його застосування вимагає дотримання техніки безпеки.

Методика наркотизації:

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У роботі вирішено важливу науково-технічну задачу підвищення екологічної безпеки поводження з буровими шламами шляхом комплексної оцінки їх токсичності.

1. Буровий шлам є високотоксичним багатокомпонентним техногенним відходом, який містить 40–70 забруднювачів, включаючи нафту (до 5,5 %), нафтопродукти (2000–13880 мг/кг), важкі метали та токсичні реагенти бурових розчинів. Такі фізико-хімічні властивості, як висока в'язкість (0,11–4,55 Па·с), лужний рН (8,5–10,5) та значний вміст парафіно-нафтових фракцій (41,7 %), визначають низьку здатність шламів до природного самоочищення і ускладнюють їх утилізацію.

2. Нині домінуючі методи поводження з буровим шламом – шламові амбари й захоронення – не забезпечують екологічної безпеки, оскільки фільтрація токсикантів у ґрунт може сягати 80 м, а відновлення рослинного покриву після забруднення становить менш ніж 50 % навіть через 15 років. Ефективне зниження токсичності можливе лише за використання комбінованих технологій: термічної обробки (300–500 °С), фізико-хімічної стабілізації та біодеструкції органічних сполук.

3. Біотестування є ключовим методом інтегральної оцінки токсичності бурових відходів, оскільки дозволяє врахувати синергічні ефекти суміші забруднювачів, недоступні для звичайних хімічних аналізів. Поєднання гострих і хронічних тестів на водних та наземних тест-організмах забезпечує багаторівневу оцінку токсичності, визначення LC50, NOEC та індексів токсичної дії.

4. Модельний організм *Drosophila melanogaster* продемонстрував високу чутливість до токсичних компонентів бурових шламів, що проявляється у зростанні смертності личинок L3 з 10–15 % (контроль) до 40–70 % та смертності лялечок до 60 % при концентрації 1–5 %. Плодючість самок

## GENERAL CONCLUSIONS ON THE WORK

A significant scientific and technical task has been solved in this work – enhancing the environmental safety of drill-cuttings management through a comprehensive assessment of their toxicity.

1. Drill cuttings represent a highly toxic, multicomponent industrial waste, containing 40–70 pollutants, including oil (up to 5.5%), petroleum products (2000–13880 mg/kg), heavy metals, and toxic drilling-fluid reagents. Their physicochemical properties – high viscosity (0.11–4.55 Pa·s), alkaline pH (8.5–10.5), and a substantial content of paraffin-naphthenic fractions (41.7%) – determine their low capacity for natural self-purification and significantly complicate disposal processes.

2. The currently dominant management methods – earthen pits and burial – fail to ensure environmental protection, as contaminant filtration can reach depths of up to 80 m, and vegetation recovery after contamination remains below 50% even after 15 years. Effective toxicity reduction is achievable only through combined technologies such as thermal treatment (300–500 °C), physico-chemical stabilization, and biodegradation of organic compounds.

3. Biotesting is a key method for integral toxicity assessment because it accounts for synergistic effects of pollutant mixtures that cannot be identified by conventional chemical analyses. A combination of acute and chronic tests on aquatic and terrestrial organisms provides a multilevel evaluation of toxicity and enables the determination of LC<sub>50</sub>, NOEC, and toxicity indices.

4. The model organism *Drosophila melanogaster* demonstrated high sensitivity to toxic components of drill cuttings, showing an increase in L3 larval mortality from 10–15% (control) to 40–70%, and pupal mortality up to 60% at concentrations of 1–5%. Female fecundity decreased from 150–200 eggs to 20–80 eggs, while a male deficit of 10–25% in the offspring indicates mutagenic and reproductive toxicity.

5. Experimental studies of drill-cuttings samples from various Ukrainian oilfields confirmed significant geographical variability in toxicity. In 50% of samples

(Bytkivske and Hlynske fields), statistically significant toxic effects were observed ( $\chi^2 = 8.92\text{--}12.59$ ), while samples from Poltava and Krasnopillia fields showed no substantial negative impact. This highlights the need for an individualized approach to assessment and disposal for each oilfield.

6. A three-level toxicity classification and a differentiated management system for drill cuttings are proposed, which include:

- for non-toxic cuttings (Class I): controlled environmentally safe burial;
- for moderately toxic cuttings (Class II): mandatory physico-chemical treatment and stabilization;
- for highly toxic cuttings (Class III): thermal disposal or deep geological isolation.

Implementation of this system, together with routine biotesting, will enhance the environmental safety of drilling operations and minimize the risks of ecological contamination.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бойко В.С. Підземний ремонт свердловин / В.С. Бойко. – Івано-Франківськ: ІФНТУНГ, 2009. – 587 с.
2. Боровик М. В., Гордійчук М. В., Васильченко А. О., Матушек Р. Р. Перспективні напрямки підвищення якості розкриття продуктивних пластів і методів інтенсифікації // Розвідка та розробка нафтових і газових родовищ. – 2015. – № 2(55). – С. 45–54.
3. Боровик М. В., Гордійчук М. В., Кобзар Ю. Б., Ліхван В. М. Термосолестійкі бурові розчини для буріння глибоких свердловин з АВПТ // Розвідка та розробка нафтових і газових родовищ. – 2013. – № 4(49). – С. 149–158.
4. Буріння свердловин: навч. посіб. / Є.А. Коровяка, В.Л. Хоменко, Ю.Л. Винников, М.О. Харченко, В.О. Расцветаєв; М-во освіти і науки України, Нац. техн. ун-т «Дніпровська політехніка». – Дніпро: НТУ «ДП», 2021. – 292 с.
5. Винников Ю.Л. Методологія науково-дослідних робіт: конспект лекцій для студентів спеціальності 185 Нафтогазова інженерія та технології. Ступінь вищої освіти – магістр / Ю.Л. Винников. – Полтава: Національний університет «Полтавська політехніка імені Юрія Кондратюка», 2022 – 70 с.
6. Дем'яненко І.І. Проблеми і оптимізація нафтогазопошукових і розвідувальних робіт на об'єктах Дніпровсько–Донецької западини / І.І. Дем'яненко. – Чернігів: ЦНТЕІ, 2004. – 220 с.
7. Деякі аспекти впровадження сучасних технологій буріння глибоких нафтових і газових свердловин // Мінеральні ресурси України. – 2020. – №11 (35). – С. 23-29.
8. Коровяка Є.А. Прогресивні технології спорудження свердловин: монографія [Електронний ресурс] / Є.А. Коровяка, А.О. Ігнатов ; М-во освіти і науки України, Нац. техн. ун-т «Дніпровська політехніка». Електрон. текст. дані. – Дніпро: НТУ «ДП», 2020. – 166 с.

9. Коцкулич Я.С. Закінчування свердловин: підручник / Я.С.Коцкулич, О.В. Тищенко. – К.: Інтерпрес ЛТД, 2009. – 366 с.
10. Нестеренко М.Ю. До питання визначення відкритої пористості порід за допомогою газоволюметричного методу / М.Ю. Нестеренко, Я.А. Пилип, В.В. Іванов, Ю.М. Віхоть // Нафтова і газова промисловість. – 2011. – №2. – С. 17 – 20.
11. Новітні методи розкриття та освоєння пластів з аномально низькими пластовими тисками / О.О.Іванків, В.М.Світлицький, М.М. Яворський, А.А.Писаренко // Науковий вісник ІФНТУНГ. – 2007. – №2(16). – С. 48 – 53.
12. Орловський В. М., Білецький В. С., Вітрик В. Г., Сіренко В. І. Бурові промивальні рідини та тампонажні суміші: Підручник. – Полтава: ПолтНТУ, 2006. – 296 с.
13. Павличенко А.В. Гідрогазодинамічні процеси при спорудженні та експлуатації свердловин. Монографія. А.В. Павличенко, Є.А. Коровяка, А.О. Ігнатов, О.М. Давиденко; М-во освіти і науки України, Нац. техн. ун-т «Дніпровська політехніка». Дніпро: НТУ «ДП», 2021. 201 с.
14. Павличенко А.В. Дослідження гідравлічних основ циркуляції технологічних рідин Монографія / А.В. Павличенко, Є.А. Коровяка, А.О. Ігнатов; М-во освіти і науки України, Нац. техн. ун-т «Дніпровська політехніка».– Дніпро: Журфонд, 2023. – 212 с.
15. Пашенко О.А. Експлуатація бурового обладнання: навч. посіб. О.А. Пашенко, Є.А. Коровяка, В.Л. Хоменко, В.О. Расцветаєв, О.М. Федик, С.В. Калинович. Дрогобич. Посвіт, 2024. – 300 с
16. Політучий О.І. Буріння нафтових і газових свердловин: навч. посібник / О.І. Політучий. – Полтава: НУ «Полтавська політехніка імені Юрія Кондратюка», 2021. – 170 с.
17. Промивальні рідини в бурінні: Підручник для студентів спеціальностей 184 «Гірництво» та 185 «Нафтогазова інженерія та технології» / Є.А. Коровяка, Ю.Л. Винников, А.О. Ігнатов, О.В. Матяш, В.О. Расцветаєв; М-во освіти і науки України, Нац. техн. ун-т «Дніпровська політехніка», 4-те вид.,

доп. – Дніпро : Журфонд, 2023. – 420 с.

18. Технологія і техніка буріння / В.С. Войтенко, В.Г. Вітрик, Р.С. Яремійчук, Я.С. Яремійчук. – Львів: Центр Європи, 2012. – 708 с.

19. Фем'як Я. М. Практичне використання кавітаційних процесів у бурінні свердловин. Монографія. Фем'як Я. М., Чудик І. І., Судаков А. К., Якимченко Я.Я., Федик О. М.. – Дрогобич: «Посвіт». - 2021. - 232 с

20. Яремійчук Р. С., Качмар Ю. Д., Семак О. С. Відкриття, розвідка та експлуатація нафтових і газових родовищ. – Львів: Центр Європи, 2003. – 450 с.

21. Ясов В. Г., Костик М. А. Розробка гуматно-біополімерного бурового розчину з низьким вмістом твердої фази для буріння свердловин в умовах родовищ Дніпровсько-Донецької западини: дис. ... канд. техн. наук: 05.15.10. – Івано-Франківськ, 2001. – 168 с.

22. Abdo J., Haneef M.D. Nano-Enhanced Drilling Fluids: Pioneering Approach to Overcome Uncompromising Drilling Problems. // J. Energy Resour. Technol., ASME, 2012, Vol. 134(1).

23. Adilbekova A., Yertayeva A. Pickering emulsions stabilized by some inorganic materials. // Chemical Bulletin of Kazakh National University, 2021, Vol. 100, p. 30–49. DOI: 10.15328/cb1135.

24. Ahmed N., Alam M.S., Salam M.A. Experimental analysis of drilling fluid prepared by mixing iron (III) oxide nanoparticles with a KCl–Glycol–PHPA polymer-based mud. // J. Pet. Explor. Prod. Technol., Springer, 2020, Vol. 10(8), p. 3389–3397.

25. Alcázar-Vara L.A., Cortés-Monroy I.R. Drilling Fluids for Deepwater Fields: An Overview. // Recent Insights in Petroleum Science and Engineering. InTech, 2018.

26. Al-Saba M.T. et al. Application of nanoparticles in improving rheological properties of water-based drilling fluids. – 2018, p. 23–26.

27. Alsaba M.T., Al Dushaishi M.F., Abbas A.K. A comprehensive review of nanoparticles applications in the oil and gas industry. // J. Pet. Explor. Prod. Technol., Springer, 2020, Vol. 10, №4, p. 1389–1399.

28. Al-Yasiri M.S., Al-Sallami W.T. How the drilling fluids can be made more efficient by using nanomaterials. // *Am. J. Nano Res. Appl.*, 2015, Vol. 3(3), p. 41–45.
29. Aziukovskyi O.O. Drilling and operation of oil and gas wells in difficult conditions : monograph / O.O. Aziukovskyi, Ye.A. Koroviaka, A.O. Ihnatov; Ministry of Education and Science of Ukraine, Dnipro University of Technology. – Dnipro: Zhurfond, 2023. – 159 p.
30. Basfar S., Mohamed A., Elkatatny S. Barite–Micromax mixture, an enhanced weighting agent for the elimination of barite sag in invert emulsion drilling fluids. // *J. Pet. Explor. Prod. Technol.*, Springer, 2020, Vol. 10(6), p. 2427–2435.
31. Berthonneau J. et al. Crystal-chemistry control of the mechanical properties of 2:1 clay minerals. // *Appl. Clay Sci.*, Elsevier, 2017, Vol. 143, p. 387–398.
32. Bridges S., Robinson L.H. A practical handbook for drilling fluids processing. // *Gulf Professional*, 2020.
33. Cayeux E., Leulseged A. Modelling of Drilling Fluid Thixotropy. // *OMAE2018*, ASME, 2018.
34. De Oliveira C.R.S. et al. Synthesis of superacid sulfated TiO<sub>2</sub> prepared by sol-gel method and its use as a titania precursor in obtaining a kaolinite/TiO<sub>2</sub> nano-hybrid composite. // *Powder Technol.*, Elsevier, 2021, Vol. 381, p. 366–380.
35. Jain R. et al. Study the effect of synthesized graft copolymer on the inhibitive water-based drilling fluid system. // *Egyptian Journal of Petroleum*, Elsevier, 2017, Vol. 26(4), p. 875–883.
36. Karpiński B., Szkodo M. Clay Minerals – Mineralogy and Phenomenon of Clay Swelling in Oil & Gas Industry. // *Advances in Materials Science*, Walter de Gruyter GmbH, 2015, Vol. 15(1), p. 37–55.
37. Krishnan S., Abyat Z., Chok C. Characterization of boron-based nanomaterial enhanced additive in water-based drilling fluids. – 2016.
38. Li M.C. et al. pH-Responsive water-based drilling fluids containing bentonite and chitin nanocrystals. // *ACS Sustain. Chem. Eng.*, ACS, 2018, Vol. 6(3),

p. 3783–3795.

39. Mao H. et al. Hydrophobic associated polymer-based silica nanoparticles composite with core–shell structure as a filtrate reducer for drilling fluid at ultra-high temperature. // *J. Pet. Sci. Eng.*, Elsevier, 2015, Vol. 129, p. 1–14.

40. Mao H. et al. Novel hydrophobic associated polymer-based nano-silica composite with core–shell structure for intelligent drilling fluid under ultra-high temperature and ultra-high pressure. // *Prog. Nat. Sci.: Mater. Int.*, Elsevier, 2015, Vol. 25(1), p. 90–93.

41. Pakdaman E. et al. Improving rheology, lubricity, and differential sticking properties of water-based drilling muds at high temperatures using hydrophilic Gilsonite nanoparticles. // *Colloids Surf. A*, Elsevier, 2019, Vol. 582, p.

42. Perumalsamy J., Gupta P., Sangwai J.S. Performance evaluation of esters and graphene nanoparticles as additives on the rheological and lubrication properties of water-based drilling mud. // *J. Pet. Sci. Eng.*, Elsevier, 2021, Vol. 204, p. 108680.

43. Rafati R. et al. Effect of nanoparticles on the modifications of drilling fluids properties: A review of recent advances. // *J. Pet. Sci. Eng.*, Elsevier, 2018, Vol. 161, p. 61–76.

44. Sajjadian M., Sajjadian V.A., Rashidi A. Experimental evaluation of nanomaterials to improve drilling fluid properties of water-based muds HP/HT applications. // *J. Pet. Sci. Eng.*, Elsevier, 2020, Vol. 190, p. 107006.

45. Słomka-Słupik B. Self-Immobilizing Metals Binder for Construction Made of Activated Metallurgical Slag, Slag from Lignite Coal Combustion and Ash from Biomass Combustion. // *Materials*, 2021, Vol. 39. DOI: 10.3390/ma14113101.

46. Stanić V., Tanasković S.B. Antibacterial activity of metal oxide nanoparticles. // *Nanotoxicity*, Elsevier, 2020, p. 241–274.

47. Yuda A.P. et al. Advances of the top-down synthesis approach for high-performance silicon anodes in Li-ion batteries. // *J. Mater. Chem. A*, Royal Society of Chemistry, 2021, Vol. 9, №35.