

ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ҐРУНТІВ ПІСЛЯ РОЗМІНУВАННЯ З ВИКОРИСТАННЯМ ТЕСТУ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ НА ЕМБРІОНАХ *Danio rerio*

Голембіовська О.І., Гребенюк Т.В., Федченко Є.П.

Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

пр. Берестейський, 37, 03056, Київ

golembiovaska-fbmi@iit.kpi.ua, t.hrebeniuk07@gmail.com, lizafeda@gmail.com

У статті представлено результати екотоксикологічної оцінки ґрунтів, забруднених залишками вибухових речовин і нафтопродуктів унаслідок детонації вибухонебезпечних предметів у процесі гуманітарного розмінування територій. Актуальність дослідження зумовлена необхідністю комплексного екологічного контролю стану ґрунтового та водного середовищ у зонах бойових дій, де після проведення робіт з розмінування можливе накопичення токсичних сполук, зокрема важких металів і продуктів вибуху, що становлять потенційну загрозу для живих організмів та екосистем.

У ході досліджень встановлено значне перевищення гранично допустимих концентрацій свинцю, нікелю, кадмію, хрому та цинку у ґрунтах досліджуваних ділянок. Для оцінки гострої токсичності забрудненого середовища застосовано біотестування на ембріонах риб *Danio rerio* (зебрафіш) відповідно до міжнародної методики OECD Guideline 236 “Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test”. Методика була адаптована та валідована для умов лабораторії, що підтверджено відповідними показниками відтворюваності та чутливості тесту з використанням референтної сполуки 3,4-дихлораніліну.

Отримані результати свідчать про чітку дозо- та часозалежну токсичну дію ґрунтових екстрактів, особливо зразків після вибуху, що проявлялася у зниженні виживаності ембріонів та збільшенні рівня летальності порівняно з негативним контролем.

Доведено, що застосований біотест є чутливим інструментом для оцінки екологічних ризиків, пов'язаних із розмінуванням забруднених територій. Отримані дані підтверджують доцільність використання тесту *Danio rerio* для екотоксикологічного моніторингу ґрунтів і водних екстрактів у зонах впливу вибухових залишків. Результати дослідження можуть бути використані для розроблення систем екологічного супроводу гуманітарного розмінування, оцінки безпеки територій після очищення та прийняття управлінських рішень у сфері відновлення довкілля. *Ключові слова:* гуманітарне розмінування; екотоксикологічна оцінка; вибухові залишки; важкі метали; гостра токсичність; біотестування.

Ecotoxicological assessment of soils after mining using the acute toxicity test on danio rerio embryos. HOLEMBIOVSKA O., HREBENIUK T., FEDCHENKO YE.

The article presents the results of ecotoxicological assessment of soils contaminated with explosive residues and petroleum products as a result of the detonation of explosive objects in the process of humanitarian demining of territories. The relevance of the study is due to the need for comprehensive ecological monitoring of the state of soil and water environments in combat zones, where after demining work, the accumulation of toxic compounds, in particular heavy metals and explosion products, which pose a potential threat to living organisms and ecosystems, is possible.

During the research, a significant excess of the maximum permissible concentrations of lead, nickel, cadmium, chromium and zinc in the soils of the studied areas was established. To assess the acute toxicity of the contaminated environment, biotesting on *Danio rerio* fish embryos (zebrafish) was used in accordance with the international method OECD Guideline 236 “Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test”. The methodology was adapted and validated for laboratory conditions, as confirmed by the corresponding reproducibility and sensitivity of the test using the reference compound 3,4-dichloroaniline.

The results obtained indicate a clear dose- and time-dependent toxic effect of soil extracts, especially samples after the explosion, which was manifested in a decrease in embryo survival and an increase in the level of lethality compared to the negative control.

It has been proven that the applied bioassay is a sensitive tool for assessing environmental risks associated with the demining of contaminated areas. The obtained data confirm the feasibility of using the *Danio rerio* test for ecotoxicological monitoring of soils and water extracts in areas affected by explosive residues. The results of the study can be used to develop systems for ecological monitoring of humanitarian demining, assess the safety of areas after clearance and make management decisions in the field of environmental restoration. *Key words:* humanitarian demining; ecotoxicological assessment; explosive residues; heavy metals; acute toxicity; biotesting.



Постановка проблеми. На території України росією використовуються різні види зброї та боєприпасів, серед яких дрони, крилаті та балістичні ракети та міни різних типів [1]. В залежності від типу змінюється призначення, відповідно потужність вибуху та механізм роботи самих вибухонебезпечні предмети (ВНП). Їх використання несе руйнівні наслідки для навколишнього середовища через фізичний вплив та забруднення важкими металами, нафтопродуктами та іншими токсичними компонентами, які можуть містити ВНП.

Актуальність дослідження. Важкі метали здатні до біоаккумуляції та можуть накопичуватись уздовж трофічного ланцюга. Хоч деякі з них є важливими мікроелементами, у надлишкових концентраціях вони можуть мати багато негативних ефектів та спричинити різні хвороби у рослин, тварин і людей відповідно.

Аналіз останніх досліджень. Свинець (Pb) вражає центральну та периферичну нервову систему, оскільки НС є найбільш чутливим органом до впливу свинцю. Свинець негативно впливає на ріст, розмноження, метаболізм, нервову систему, розвиток та поведінку [2]. Свинець з поверхні ґрунту може інфільтруватись у підземні води, які слугують основним джерелом питної води для значної частини населення України.

Мідь (Cu) є життєвоважливим мікроелементом, необхідним для клітинних функцій, але є небезпечною у високих концентраціях: може відкладатися у печінці та викликати цироз печінки, також вражає нирки, мозок та інші органи. Хронічна токсичність асоційована із неврологічними та психічними розладами (тривожність, депресія, головні болі), ендокринними порушеннями (гіпотиреоз, діабет) [3].

Кадмій (Cd) є надзвичайно біостійким і може накопичуватись та залишатись в організмі протягом багатьох років після потрапляння до організму (біологічний період напіввиведення – 10-30 років). Даний метал може бути потенційним фактором ризику раку легень, нирок або простати. Для дії високих концентрацій кадмію характерна нефротоксичність, яка супроводжується пошкодженням ниркових каналців, каменів у нирках та глюкозурією. При хронічній інтоксикації кадмієм може зменшуватись поглинання кальцію в організмі, що тягне за собою демінералізацію скелету та остеопороз. Через тривалий вплив також виникають нейродегенеративні розлади [4].

Хром (Cr) може викликати мутації та рак через високу окислювальну здатність. Особливу небезпеку становить шестивалентний хром, оскільки він легше проникає в клітини в порівнянні із тривалентним хромом і здебільшого пов'язаний із канцерогенною активністю. Шестивалентний хром не має прямого токсичного впливу на гени, потрапляючи через систему транспорту сульфатів, він відновлюється до тривалентного хрому, а проміжні продукти, що утворюються під час відновлення і спричиняють

пошкодження ДНК. Відновлений хром реагує з фосфатними групами ДНК та перешкоджає нормальній реплікації та транскрипції, що спричиняє мутагенез, а також взаємодіє з певними групами ферментів [5].

Сполуки нікелю (Ni) класифіковані Міжнародним агентством дослідження раку (IARC) як канцерогенні (група 1) при хронічній дії. Нікель в організмі може спричинити нейротоксичні ефекти, серцево-судинні та ниркові захворювання. Саме токсичність і канцерогенність нікелю пов'язані із мітохондріальними дисфункціями та окислювальним стресом [6]. При надлишкових концентраціях інгібує ріст та перешкоджає роботі ферментів RISCs (сульфітоксидаза та сульфурдіоксигеназа) [7]. Крім того нікель може викликати певні епігенетичні зміни: гіперметилування ДНК та модифікацію гістонів, що порушують геном та потенційно можуть спричинити розвиток пухлин [6].

Перевищені концентрації цинку (Zn) можуть мати нейротоксичну дію: синаптично вивільнений цинк спричиняє загибель нейронів, що перешкоджає виробленню клітинної енергії через порушення роботи мітохондрій. Високий рівень цинку може викликати неврологічні симптоми: млявість, запаморочення, тривожність та навіть депресію. За хронічної дії підвищені концентрації цинку в організмі людини можуть спричинити дефіцит міді та конкурентну взаємодію із залізом, внаслідок чого може знизитись сироватковий феритин та гематокрит [8].

Токсична дія мангану (Mn) в надмірних концентраціях в основному спрямована на мозок, що спричиняє марганізм – хворобу, що за загальними ознаками нагадує хворобу Паркінсона: порушення мовлення, специфічну ходу, атаксія, порушення дрібної моторики, дофамінергічна дисфункція. Небезпека полягає у незворотності нейротоксичних ефектів спричинених дією мангану. Також перевищення мангану в організмі може спричинити зміни у роботі серцево-судинної функції, особливо після гострого впливу [9].

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми, котрим присвячується означена стаття. Для оцінки якості проб ґрунту, який було відібрано у кратері до вибуху ВНП та після його контрольованої детонації, було проведено хімічний аналіз на вміст важких металів та нафтопродуктів. Результати наведені у таблиці 1.

З результатів аналізу бачимо значне перевищення гранично-допустимих концентрацій важких металів у ґрунті, а саме свинцю, нікелю, кадмію, хрому та цинку. На основі досліджуваних зразків проведено біотестування сформованого середовища для визначення рівня його гострої токсичності та потенційного впливу на живі організми.

Методика проведення дослідження гострої токсичності залишків бризантних речовин та нафтопродуктів в землі після детонації вибухо-небезпечного предмета на ембріонах риб *Danio rerio*.

Таблиця 1

Результати хімічних досліджень проб ґрунтів, уражених військовими діями

Вміст важких металів (валовий вміст), мг/кг	Проба № 1 (до детонації ВВП)	Проба № 2 (після детонації ВВП)	ГДК у ґрунті за Гігієнічними регламентами*, мг/кг	Перевищення у пробі № 2 відносно ГДК в n разів
1	2	3	4	5
Pb	84,5	357,0	32,0	11,16
Cu	1,56	1,91	3,0	-
Ni	228,6	229,6	4,0	57,4
Cd	0,14	4,58	1,5	3
Cr	10,6	36,6	0,05	732
Zn	189,1	331,6	23,0	14,4
Mn	129,8	255,4	1500,0	-
Нафтопродукти, мг/кг	80,0	342,0	1000,0	-

Гігієнічні регламенти допустимого вмісту хімічних речовин у ґрунті, затверджені Наказом Міністерства охорони здоров'я України від 14 липня 2020 року № 1595

Дослідження гострої токсичності зразків проводили на ембріонах риб *Danio rerio* (зебрафіш) відповідно до міжнародної методики OECD Guideline 236 "Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test" (OECD, 2013) [10]. Методика була адаптована та валідувана для умов лабораторії кафедри трансляційної медичної біоінженерії факультету біомедичної інженерії, що підтверджено звітом про валідацію № 01/2025 від 09.09.2025.

За результатами валідації встановлено, що метод забезпечує відтворюваність показників життєздатності ембріонів згідно з критеріями OECD 236. Під час перевірки використовували референтну сполуку 3,4-дихлоранілін (3,4-DCA), для якої отримане значення LC_{50} (96 год) = 2,4 мг/л, що відповідає рекомендованому діапазону чутливості (2,0–4,0 мг/л).

Ембріони *Danio rerio* одержували шляхом природного нересту здорових статевозрілих риб. Відібрані запліднені яйця (не пізніше ніж 2 год після запліднення, hpf) промивали у дистильованій воді та розміщували по 1 ембріону у 20 комірок 24-коміркового мікропланшета. Об'єм експозиційного середовища становив 2 мл на одну комірку.

Яктестові зразки використовували водні екстракти ґрунту до та після детонації. Для одержання екстрактів зразки ґрунту по 300 г змішували з 750 мл дистильованої води у співвідношенні 1:4 та витримували 24 год при 25 ± 2 °C в орбітальному шейкері-інкубаторі BIOSAN ES-20/60 з перемішуванням 50 об/хв, після чого фільтрували через паперовий фільтр. Отримані екстракти розводили до необхідних концентрацій. Використовували розведення 1:1 з водою та 1:3 з водою. Негативним контролем служила чиста дистильована вода. Позитивний контроль із фіксованою концентрацією 4 мг/л 3,4-дихлораніліну також використовувався для порівняння.

Ембріони експонували у тестових середовищах протягом 96 год при температурі 26 ± 1 °C та світ-

ловому режимі 14:10 (світло:темрява). Середовище замінювали або доповнювали щодня. Спостереження проводили через 24, 48, 72 та 96 год після початку експозиції.

Критеріями життєздатності ембріонів відповідно до OECD 236 були:

- коагуляція (згортання) ембріону;
- відсутність серцебиття;
- відсутність відокремлення хвостового відділу;
- відсутність формування сомітів.

Визначали частку нежиттєздатних ембріонів у кожній групі. Статистичну обробку результатів здійснювали із використанням програмного забезпечення Microsoft Excel та середовища R.

Новизна. Отримані результати дозволили оцінити рівень гострої токсичності тестових зразків щодо ембріонів *Danio rerio* та використовувати методику для подальшого моніторингу впливу вибухових залишків, бризантних речовин і нафтопродуктів у водному середовищі.

Виклад основного матеріалу. Щоб результати експерименту вважалися дійсними, виконувалися кілька стандартних критеріїв. Загальний відсоток запліднення яєць у кожній партії мав становити не менше 70%. Вживаність ембріонів у негативному контролі та, при потребі, у контрольній групі з розчинником мала бути $\geq 90\%$ до кінця 96-годинної експозиції. Водночас експозиція до позитивного контролю повинна була викликати мінімальну смертність 30%, що дозволяє оцінити чутливість тесту. Відсоток вилуплення ембріонів у негативному контролі, а також у контрольній групі з розчинником, якщо застосовувався, мав становити $\geq 80\%$. Крім того, наприкінці 96 годин концентрація розчиненого кисню у негативному контролі та у найвищій тестованій концентрації повинна була залишатися на рівні $\geq 80\%$ від насичення.

Таким чином, дотримання цих критеріїв забезпечувало валідність тесту та дозволяло достовірно оці-

нити вплив різних концентрацій екстрактів ґрунту на розвиток і морфологічні ознаки ембріонів *Danio rerio*.

Результати. Результати експерименту показали, що виживаність ембріонів *Danio rerio* залежить від концентрації екстрактів ґрунту та часу експозиції. У групі з екстрактом ґрунту після вибуху (Soil_after) при найнижчій концентрації 0,25 смертність ембріонів була відсутня протягом перших 72 годин і становила 20% на 96-й годині, а до 120-ї години всі ембріони загинули. При концентрації 0,5 загибель ембріонів розпочиналася вже на 24-й годині (20%) і поступово зростала до 60% на 120-й годині. Нативний екстракт (1) викликав помірну смертність, яка становила 50–55% до кінця експозиції.

У групі ґрунту до вибуху (Soil_before) спостерігалася схожа доза- та часозалежна динаміка, проте загальна смертність при тих же концентраціях була дещо нижчою. Так, для концентрації 0,25 смертність на 96-й годині досягала 65%, а на 120-й – 100%. Для концентрації 0,5 загибель коливалася від 20% на 24-й годині до 60% на 120-й. Нативний екстракт (1) викликав смертність 25–35% протягом експозиції.

Негативний контроль (вода) демонстрував високу виживаність ембріонів: 90% залишалися живими до кінця 120-годинного спостереження. Позитивний контроль (3,4-дихлоранілін, 4 мг/л) підтвердив чутливість системи: смертність ембріонів зростала від 45% на 24-й годині до 65% на 96-й та 120-й години.

У ході дослідження також оцінювали вплив водних екстрактів ґрунту на розвиток ембріонів *Danio rerio*, зокрема звертали увагу на серцебиття (HeartRate),

набряки (Edema) та інші морфологічні ознаки (Other_sign). Експеримент включав такі групи: Негативний контроль (0) – вода для розведення; Нативний екстракт ґрунту (1); Розведення 1:1 (0,5) – 1 мл нативного екстракту + 1 мл води; Розведення 1:3 (0,25) – 250 мкл нативного екстракту + 1 мл води; Позитивний контроль (4) – 3,4-дихлоранілін 4,0 мг/л.

Результати свідчать про чітку доза-залежну токсичність. Серцебиття (HeartRate): у негативному контролі та при низьких дозах екстракту (0,25–0,5) серцебиття залишалось нормальним. Нативний екстракт (1) спричинив поодинокі випадки слабого серцебиття (1 із 20 ембріонів). Позитивний контроль (4) викликав значні порушення серцебиття у більшості ембріонів (8 із 20). Набряки (Edema): негативний контроль та низькі розведення (0,25–0,5) не спричинили появи набряків. Нативний екстракт (1) викликав поодинокі прояви едеми жовточного мішка (5 ембріонів). Позитивний контроль (4) призвів до різних видів набряків, включно з перикардом, жовточним мішком та хвостом, іноді комбінованих у кількох ембріонів. Інші морфологічні ознаки (Other_sign): при низьких дозах (0,25–0,5) спостерігалися поодинокі ушкодження (деформоване око). Нативний екстракт (1) викликав окремі морфологічні зміни: пошкоджене око, порушення рухів хвостом, пошкодження оболонки яйця. Позитивний контроль (4) спричинив широкий спектр уражень, включно з ушкодженням плавників, щелепи, нерухомістю хвоста, порушенням пігментації очей та комбінованими морфологічними змінами.

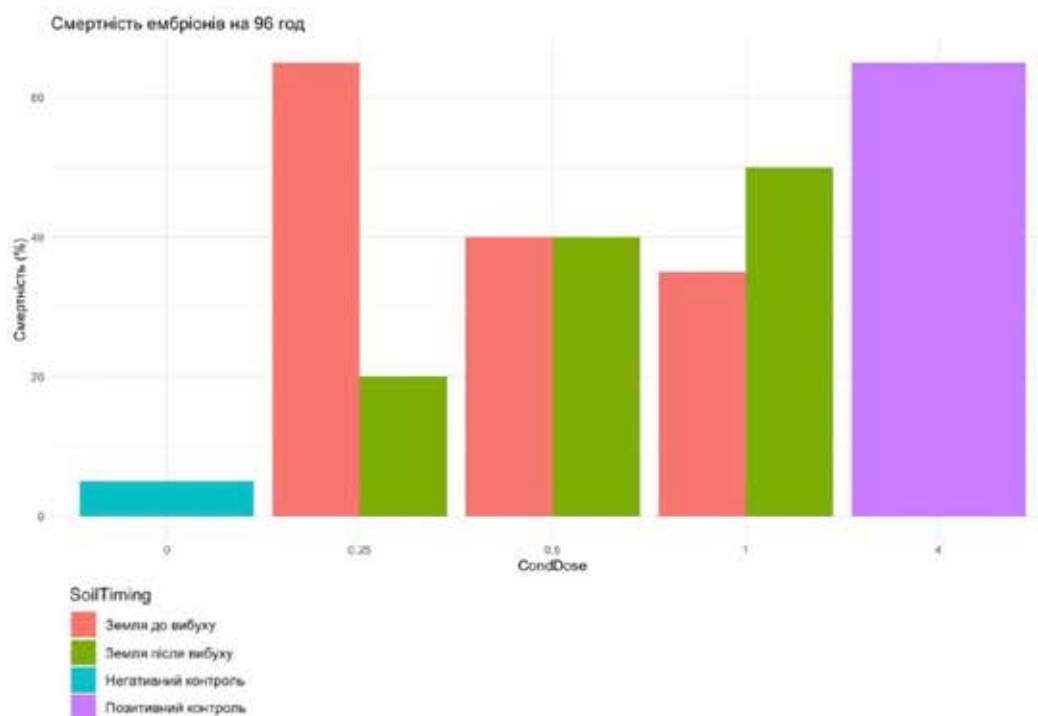


Рис. 1. Порівняльні показники смертності ембріонів *Danio rerio*

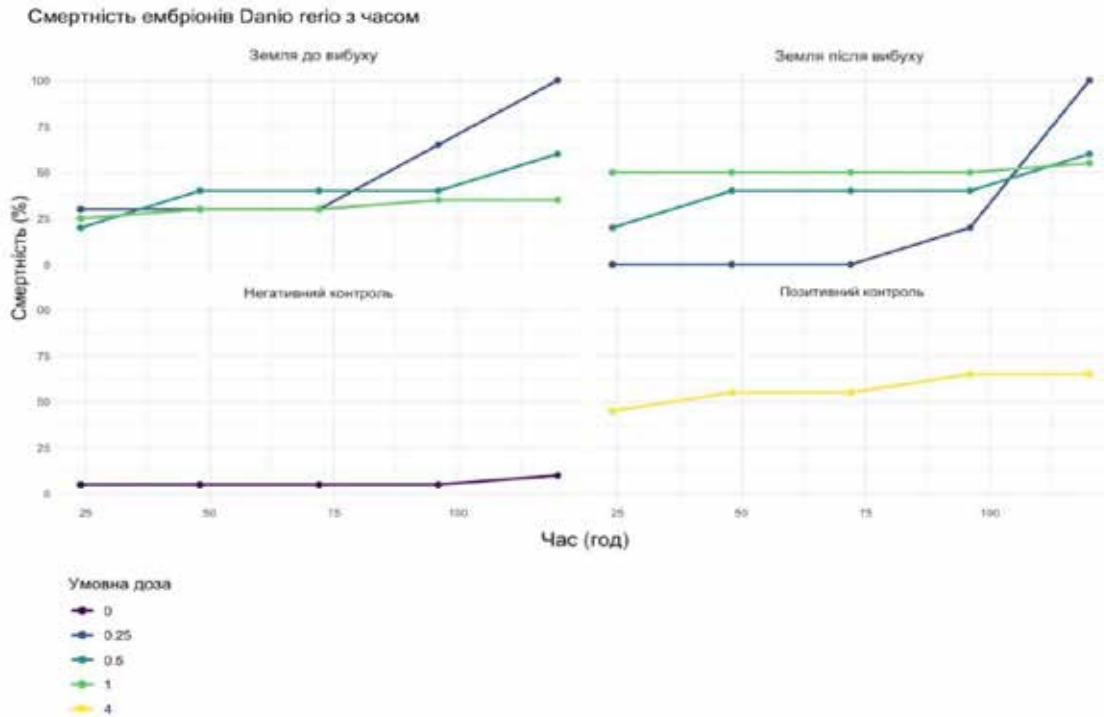


Рис. 2. Смертність ембріонів *Danio rerio* з часом



Рис. 3. Кількість ембріонів з ознаками розраду розвитку

Таким чином, експеримент показав, що низькі розведення екстракту ґрунту практично не впливають на розвиток ембріонів, нативний екстракт

викликає помірні ефекти, а позитивний контроль підтвердив чутливість тест-системи та продемонстрував виражену токсичність. Дані свідчать про

доза-залежний ефект для всіх досліджуваних ознак та дозволяють робити висновки щодо потенційної токсичності ґрунтових екстрактів.

Головні висновки. Аналіз результатів дослідження показав, що вплив нативних екстрактів ґрунту та їх розведень на ембріони *Danio rerio* залежав від концентрації та часу експозиції. Ембріони, які перебували у негативному контролі (вода), зберігали високу життєздатність протягом всіх 120 годин спостереження, що підтверджує валідність проведеного тесту. У позитивному контролі (3,4-дихлоранілін, 4 мг/л) спостерігалася суттєва смертність та прояв різних токсичних ознак, зокрема слабке серцебиття, едема перикарда та жовточного мішка, порушення рухової активності та деформації, що підтверджує чутливість системи до відомого токсиканту.

Для ґрунту до вибуху та після вибуху прояв токсичних ефектів також був дозозалежним. Вищі концентрації нативного екстракту та менші розведення викликали збільшення смертності ембріонів та появу морфологічних змін, таких як едема жовточного мішка, перикарда, деформації ока та порушення рухової активності. Найбільш чутливими ознаками токсичності виявилися зміни серцебиття, едема та морфологічні дефекти.

Перспективи використання результатів дослідження. Таким чином, результати демонструють, що залишки вибухових речовин та компонентів ракетного палива в ґрунті можуть негативно впливати на розвиток ембріонів риб, причому ефект посилюється зі збільшенням концентрації екстракту. Це підкреслює необхідність подальшого дослідження потенційної токсичності таких середовищ та оцінки ризику для водних організмів.

Література

1. Полі Е., Седдон Б. Вибухові боеприпаси: посібник для України: [2-ге вид.] / за підтримки Чарліч Й. ; Geneva International Centre for Humanitarian Demining (GICHD). Женева: GICHD, 2022. С. 9–23.
2. Wani A. L., Ara A., Usmani J. A. Lead toxicity: a review. *Interdisciplinary Toxicology*. 2015. Vol. 8, № 2. P. 55–64. DOI: 10.1515/intox-2015-0009.
3. Cruz F. J. R., Oliveira Neto C. F., Ferreira R. L. C., Galvão J. R. Copper Toxicity in Plants: Nutritional, Physiological, and Biochemical Aspects. *ResearchGate*. 2022.
4. Rahimzadeh M. R., Rahimzadeh M., Kazemi S., Moghadamnia A. Cadmium toxicity and treatment: An update. *Caspian Journal of Internal Medicine*. 2017. Vol. 8, № 3. P. 135–145. DOI: 10.22088/cjim.8.3.135.
5. Shekhawat K., Chatterjee S., Joshi B. Chromium Toxicity and its Health Hazards. *International Journal of Advanced Research*. 2022.
6. Genchi G., Carocci A., Lauria G., Sinicropi M. S., Catalano A. Nickel: Human Health and Environmental Toxicology. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020. Vol. 17. Art. 679. DOI: 10.3390/ijerph17030679.
7. Das S., Dash H. R., Chakraborty J. Genetic basis and importance of metal resistant genes in bacteria for bioremediation of contaminated environments with toxic metal pollutants. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016. Vol. 100. P. 2967–2984. DOI: 10.1007/s00253-016-7364-4.
8. Nriagu J. Zinc Toxicity in Humans / School of Public Health, University of Michigan. Amsterdam: Elsevier B.V., 2007.
9. O'Neal S. L., Zheng W. Manganese Toxicity Upon Overexposure: a Decade in Review. *Current Environmental Health Reports*. 2015. Vol. 2, № 4. P. 315–328.
10. OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals. Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test. Paris: OECD Publishing, 2013.

Дата першого надходження статті до видання: 14.01.2026

Дата прийняття статті до друку після рецензування: 25.02.2026

Дата публікації (оприлюднення) статті: 13.04.2026