



Теоретическая и прикладная **ЭКОЛОГИЯ**

№4

**ВЫПОЛНЕНИЕ
РОССИЕЙ
КОНВЕНЦИИ
О ЗАПРЕЩЕНИИ
ХИМИЧЕСКОГО
ОРУЖИЯ**

**МЕТОДЫ
И ТЕХНОЛОГИИ
ПРИ УНИЧТОЖЕНИИ
ХИМИЧЕСКОГО
ОРУЖИЯ**

**МОНИТОРИНГ
ОБЪЕКТОВ
ПО УНИЧТОЖЕНИЮ
ХИМИЧЕСКОГО
ОРУЖИЯ**

**МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЙ,
ПРИБОРЫ, МОДЕЛИ
И ПРОГНОЗЫ**

ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ

**ВОПРОСЫ
ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ
БЕЗОПАСНОСТИ
И МЕДИЦИНСКОГО
ОБЕСПЕЧЕНИЯ
ПЕРСОНАЛА ОБЪЕКТОВ**

**ОБЕСПЕЧЕНИЕ
ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ
БЕЗОПАСНОСТИ**

СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЙ ВЫПУСК ЖУРНАЛА, ПОСВЯЩЁННЫЙ НАУЧНЫМ ДОСТИЖЕНИЯМ И РАЗРАБОТКАМ В ОБЛАСТИ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ НА ОБЪЕКТАХ ПО УНИЧТОЖЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ

Подводя итоги выполнения федеральной целевой программы «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации» в 2014 г. М. В. Бабищ сообщил, что государственный оборонный заказ выполнен досрочно и в полном объёме. На российских объектах уничтожено 84,8% боевых отравляющих веществ, что составляет почти 34 тыс. т.



На фото (слева направо): директор Департамента реализации конвенционных обязательств доктор химических наук, профессор В. И. Холстов; Полномочный представитель Президента РФ в ПФО, председатель государственной комиссии по химическому разоружению М. В. Бабищ; начальник Федерального управления по безопасному хранению и уничтожению химического оружия генерал-полковник, доктор технических наук, профессор В. П. Капашин

В настоящее время выполняется четвёртый этап, он завершится полным уничтожением запасов химического оружия, после чего производственные площадки бывших объектов хранения и уничтожения химического оружия планируется использовать для развертывания нового производства, в том числе в целях импортозамещения.



По итогам выполнения государственного оборонного заказа 2014 года Совет Федерации Федерального Собрания Российской Федерации и Государственная Дума Федерального Собрания Российской Федерации наградили коллектив Федерального управления по безопасному хранению и уничтожению химического оружия при Министерстве промышленности и торговли Российской Федерации (Федеральное управление) Почётными грамотами.



*Теоретическая
и прикладная*
ЭКОЛОГИЯ
№ 4, 2014

**Журнал включён в Перечень ведущих
рецензируемых научных журналов
и изданий, в которых должны быть
опубликованы основные
научные результаты
диссертаций на соискание
учёных степеней доктора и кандидата наук**

Учредитель журнала
ООО Издательский дом «Камертон»
Главный редактор ООО ИД «Камертон»,
д.г.н., профессор Б.И. Кочуров

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор
Т.Я. Ашихмина, д.т.н., профессор,
зав. кафедрой химии Вятского
государственного гуманитарного
университета, зав. лабораторией
биомониторинга Института биологии
Коми НЦ УрО РАН

Зам. главного редактора
В.В. Гутенёв, д.т.н., профессор,
первый зам. председателя Комитета
Государственной думы РФ по промыш-
ленности, лауреат Государственной и
Правительственной премий РФ

Зам. главного редактора
С.В. Дёгтева, д.б.н., директор
Института биологии
Коми НЦ УрО РАН

Зам. главного редактора
И.Г. Широких, д.б.н., зав. лабораторией
биотехнологии растений и микроорганизмов
Зонального научно-исследовательского
института сельского хозяйства
Северо-Востока
им. Н.В. Рудницкого

Ответственный секретарь
С.Ю. Огородникова, к.б.н., доцент,
старший научный сотрудник
Института биологии Коми
НЦ УрО РАН

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ РЕДАКЦИОННЫХ СОВЕТОВ

Н.П. Лавёров председатель межведомственной комиссии
при Совете безопасности РФ, вице-президент
РАН, академик РАН

ПРЕЗИДИУМ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

В.А. Грачёв д.т.н., профессор, член-корреспондент РАН,
председатель Общественного совета
Федеральной службы по экологическому,
техническому и атомному надзору

В.И. Холстов д.х.н., директор Департамента реализации
конвенционных обязательств Министерства
промышленности и торговли РФ

В.Г. Ильницкий д.э.н., директор ОАО «Научно-исследо-
вательский проектно-изыскательский
институт «Кировпроект»

А.П. Трегуб к.и.н., директор ФБУ «Государственный
научно-исследовательский институт
промышленной экологии»

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

В.А. Алексеев д.т.н., профессор Ижевского государственного
университета

С.И. Барановский д.т.н., профессор, академик РЭА,
заместитель председателя Общественного
совета «Росатома», председатель
Российского экологического конгресса

Л.И. Домрачева д.б.н., профессор Вятской государственной
сельскохозяйственной академии

И.Е. Дубовик д.б.н., профессор Башкирского
государственного университета

Г.П. Дудин д.б.н., зав. кафедрой биологии растений,
селекции и семеноводства, микробиологии
Вятской государственной
сельскохозяйственной академии

Г.А. Евдокимова д.б.н., профессор, заместитель директора
Института проблем промышленной экологии
Севера Кольского НЦ РАН

И.А. Жуйкова к.г.н., доцент Вятского государственного
гуманитарного университета

Г.М. Зенова д.б.н., профессор Московского
государственного университета
им. М.В. Ломоносова

В.И. Измалков д.т.н., профессор Военной Академии
Генштаба МО РФ

Г.Я. Кантор к.т.н., научный сотрудник Института биологии
Коми НЦ УрО РАН

Э.И. Коломиец д.б.н., член-корреспондент НАН Беларуси,
директор Института микробиологии
национальной академии наук Беларуси

Л.В. Кондакова д.б.н., зав. кафедрой экологии Вятского
государственного гуманитарного университета

Б.И. Кочуров д.г.н., профессор, ведущий научный
сотрудник Института географии РАН

Журнал издаётся при поддержке
Департамента реализации конвенционных
обязательств Министерства промышленности
и торговли РФ в рамках ФПЦ «Уничтожение
запасов химического оружия в РФ»,
ФГБОУ ВПО «Вятский государственный
гуманитарный университет»

Издание зарегистрировано
Федеральной службой по надзору в сфере
массовых коммуникаций, связи
и охраны культурного наследия
Свидетельство о регистрации
ПФ № ФС 77-29059

Подписные индексы 82027, 48482
в каталоге Агентства «Роспечать»

Зарубежная подписка оформляется
через фирмы-партнёры
ЗАО «МК-ПЕРИОДИКА» по адресу:
129110, г. Москва,
ул. Гиляровского, 39,
Тел.: (495) 281-91-37, 281-97-63.
Факс (495) 281-37-98
E-mail: info@periodicals.ru.
<http://www.periodicals.ru>

To effect subscription it is necessary to address to one
of the partners of JSC «MK-Periodica» in your country
or to JSC «MK-Periodica» directly. Address: Russia,
129110, Moscow, 39, Gilyarovsky St.,
JSC «MK-Periodica»

Статьи рецензируются. Перепечатка без
разрешения редакции запрещена, ссылки на
журнал при цитировании обязательны.
Редакция не несёт ответственности
за достоверность информации,
содержащейся в рекламных объявлениях

Подготовлен к печати
в издательстве ООО «О-Краткое»
610000, г. Киров, Динамовский проезд, 4
Тел./факс (8332) 32-28-39. E-mail: okrat@okrat.ru
Оригинал-макет, дизайн – Татьяна Коршунова
Фото – Дмитрий Грибанов
Перевод – Ирина Кондакова
Выпускающий редактор Мария Зелаева
© Оформление. Издательство «О-Краткое»
Директор издательства «О-Краткое»
Евгений Дрогов

Подписано в печать 15.12.2014. Формат 60x84¹/₈.
Печать офс. Бумага офс. Усл.п.л. 15,11.
Тираж 1500 экз. Заказ № 126.

Отпечатано в полном соответствии с качеством
предоставленных материалов
в ООО «Кировская цифровая типография»
610020, г. Киров, ул. Энергетиков, 38

-
- В.З. Латыпова** д.х.н., член-корреспондент Академии наук Республики Татарстан, профессор Казанского государственного университета им. В.И. Ульянова-Ленина
- Ли Юй** профессор, директор Института микологии Цзилиньского аграрного университета, иностранный член РАН (КНР)
- В.А. Малинников** д.т.н., профессор, проректор Московского государственного университета геодезии и картографии
- А.Г. Назаров** д.б.н., профессор, заместитель председателя Общественного совета «Росатом», директор экологического центра ИИЕТ РАН
- А.Ф. Радченко** руководитель Аппарата ФГУ Общественная палата (вице-президент ОООР «Экосфера»)
- О.Ю. Растегаев** д.х.н., заместитель директора ФБУ «Государственный научно-исследовательский институт промышленной экологии»
- В.П. Савиных** д.т.н., член-корреспондент РАН, профессор, президент Московского государственного университета геодезии и картографии, лётчик-космонавт, дважды Герой СССР
- Ф. Скапини** д.б.н., профессор Университета Флоренции (Италия)
- В.А. Сысуев** д.т.н., академик Россельхозакадемии, директор Зонального научно-исследовательского института сельского хозяйства Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого
- В.И. Теличенко** д.т.н., профессор, академик РААСН, ректор Московского государственного строительного университета
- Т.А. Трифонова** д.б.н., профессор Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова
- А.И. Фокин** зам. председателя Комитета Государственной Думы по природным ресурсам, природопользованию и экологии
- М.Х. Хусейн** д.б.н., профессор Университета Ассиут (Египет)
- В.Т. Юнгблюд** д.и.н., профессор, ректор Вятского государственного гуманитарного университета
-

По вопросам размещения рекламы и публикации статей обращаться:
610002, г. Киров, ул. Красноармейская, 26,
тел./факс 8 (8332) 37-02-77.
E-mail: ecolab2@gmail.com; ecolab@vshu.kirov.ru

**ВЫПОЛНЕНИЕ
РОССИЕЙ
КОНВЕНЦИИ
О ЗАПРЕЩЕНИИ
ХИМИЧЕСКОГО
ОРУЖИЯ**

**МЕТОДЫ
И ТЕХНОЛОГИИ
ПРИ
УНИЧТОЖЕНИИ
ХИМИЧЕСКОГО
ОРУЖИЯ**

СОДЕРЖАНИЕ

<i>В. И. Холстов</i> Уничтожение запасов химического оружия в России на завершающем этапе	8
<i>В. П. Капашин</i> Выполнение завершающего этапа уничтожения запасов химического оружия в Российской Федерации	12
<i>А. Ю. Кармишин, Ю. Г. Радюшкин, Е. В. Брызгалина, А. М. Клюев, В. Л. Рудь, С. А. Белов</i> Организационно-технические аспекты разработки исходных данных на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности объектов по хранению и уничтожению химического оружия	15
<i>Т. В. Воробьёв, Д. А. Зыгин, Е. А. Василькова</i> Возможные перспективы использования солевых отходов, образующихся при термической обработке реакционной массы от фосфорорганических отравляющих веществ.....	21
<i>Н. В. Завьялова, И. В. Филимонов, Е. Н. Ефременко, В. И. Холстов, А. А. Янковская</i> Биотехнологические методы и нейтрализующие средства для обеззараживания почв и очищения вод, загрязнённых экотоксикантами.....	26
<i>Н. В. Завьялова, И. В. Филимонов, В. А. Ковтун, А. Н. Голипад, С. В. Петров, К. К. Стяжкин, Е. Н. Ефременко, В. И. Холстов, А. А. Янковская</i> Основные технологические операции и стадии биоремедиации почв и очистки вод <i>in situ</i>	34
<i>Н. В. Завьялова, И. В. Филимонов, Е. Н. Ефременко, В. И. Холстов, А. А. Янковская</i> Биокатализаторы на основе штаммов микроорганизмов и ферментов, обладающих повышенной способностью к разложению отравляющих веществ и продуктов их деструкции, в процессе очистки почв и вод.....	42
<i>К. К. Стяжкин, А. С. Туманов, Т. Я. Ашихмина, Д. П. Колесников, В. В. Тетерин, И. П. Погорельский, А. А. Лещенко, А. Г. Лазыкин, А. Р. Зиганшин</i> Экспериментальная оценка микробоцидного и деградационного потенциала биопрепарата деструктора фосфорорганических соединений	51
<i>С. А. Шаров, Т. Я. Ашихмина</i> Адаптация микробных биотехнологий ремедиации почв к реальным объектам санации.....	60

**МОНИТОРИНГ
ОБЪЕКТОВ
ПО УНИЧТОЖЕНИЮ
ХИМИЧЕСКОГО
ОРУЖИЯ**

**МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЙ,
ПРИБОРЫ, МОДЕЛИ
И ПРОГНОЗЫ**

ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ

- Л. В. Кондакова, Л. И. Домрачева, С. Ю. Огородникова, А. С. Олькова, Н. А. Кудряшов, Т. Я. Ашихмина*
Биоиндикационные и биотестовые реакции организмов на действие метилфосфонатов и пирофосфата натрия 63
- Т. Я. Ашихмина, Е. В. Товстик, С. Ю. Огородникова, И. Г. Широких* Изучение реакций почвенных актиномицетов на отдельные продукты деструкции химического оружия 70
- Е. В. Брызгалина, В. Л. Рудь, Д. А. Зыгин, М. К. Беломытцев*
Исследование процессов трансформации фосфорсодержащих органических веществ в окружающей среде 76
- Л. Н. Анищенко, И. А. Балясников, Т. А. Рудакова*
Лихеноиндикация состояния атмосферного воздуха на химически опасных техногенных объектах 79
- Д. А. Зыгин, Ю. А. Егорова, М. А. Голышев*
Некоторые вопросы, связанные с идентификацией фосфорорганических отравляющих веществ при уничтожении боеприпасов сложной конструкции 85
- В. Г. Мандыч, А. А. Островский, О. В. Адысев, А. Ю. Кармишин, И. Н. Исаев, Ю. А. Егорова, Д. А. Зыгин* Обоснование перечня продуктов деструкции отравляющих веществ типа Vх, обеспечивающих его идентификацию при уничтожении блоков авиационных бомб 88
- И. В. Коваленко, А. С. Лякин, А. Н. Комиссаров, С. Ю. Коняхин*
Основные аспекты использования простейших средств контроля отравляющих веществ применительно к процессу вывода из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности объектов по уничтожению химического оружия 92
- А. Н. Комиссаров, И. В. Коваленко, А. С. Лякин, Р. Р. Балкаров*
Тенденции в развитии простейших средств контроля отравляющих веществ на объектах по хранению и уничтожению химического оружия 96
- Ю. В. Новойдарский, Т. Я. Ашихмина, И. Г. Широких, Л. И. Домрачева, С. Ю. Огородникова* Методические аспекты проведения работ по подготовке объектов хранения и уничтожения химического оружия к мероприятиям по выводу их из эксплуатации..... 100
- В. С. Романов, Е. В. Кинаш, В. А. Берестов, Е. И. Савельева, Н. Л. Корягина* Порядок проведения химико-токсикологического анализа биологических проб для установления факта воздействия отравляющих веществ на организм 105

**ВОПРОСЫ
ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ
БЕЗОПАСНОСТИ
И МЕДИЦИНСКОГО
ОБЕСПЕЧЕНИЯ
ПЕРСОНАЛА
ОБЪЕКТОВ**

**ОБЕСПЕЧЕНИЕ
ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ
БЕЗОПАСНОСТИ**

**RUSSIA'S
PERFORMANCE
OF THE CONVENTION
ON PROHIBITION
OF CHEMICAL
WEAPONS**

**METHODS AND
TECHNOLOGIES
OF CHEMICAL
WEAPONS
DESTRUCTION**

*Б. Н. Филатов, В. В. Клаучек, Н. Г. Британов, Н. В. Крылова,
Л. А. Доброшенко А. С. Фролов, Т. А. Чарова, Т. Я. Дворчик*
Медико-гигиенические аспекты обеспечения
безопасности персонала объектов по уничтожению
химического оружия 110

Д. Д. Алексеус, О. В. Козлов, О. М. Плотникова
Динамика зообентоса озёр зоны защитных мероприятий объекта
по уничтожению химического оружия в г. Щучье как метод
биологического мониторинга..... 116

Л. Н. Анищенко, И. А. Балясников, Т. А. Рудакова
Экологические аспекты фиторемедиации и рекультивации
с использованием сосудистых растений и мохообразных 122

Информация о конференции CHEMDET–2015 128

CONTENTS

V. I. Kholstov The final stage of decommission
of chemical weapons stockpiles in Russia 8

V. P. Kapashin Russia's Fulfilling the federal program
"Decommission of Chemical Weapons" goes to plan 12

*A. Yu. Karmishin, Yu. G. Radyushkin, E. V. Bryzgalina,
A. M. Klyuyev, V. L. Rud', S. A. Belov*
Organizational and technical aspects of the original data
on decommissioning and liquidation of the effects
of chemical weapons storage and destruction plants..... 15

T. V. Vorobyov, D. A. Zygin, E. A. Vasil'kova Possible prospects
of utilizing saline waste generated by thermal treatment
of organophosphorus agents reaction mass..... 21

*N. V. Zavyalova, I. V. Filimonov, E. N. Efremenko, V. I. Kholstov,
A. A. Yankovskaya* Biotechnological methods and neutralizing
agents for purification of soils and water, which were
contaminated by ecotoxic substances 26

*N. V. Zavyalova, I. V. Filimonov, V. A. Kovtun, A. N. Golipad,
S. V. Petrov, K. K. Styazhkin, E. N. Efremenko, V. I. Kholstov,
A. A. Yankovskaya* The main technological operations and stages
of bioremediation of soils and water purification *in situ*..... 34

**MONITORING
CHEMICAL
WEAPONS
DECOMMISSION
PLANTS**

**METHODS, TOOLS,
MODELS,
AND PROSPECTS**

- N. V. Zavyalova, I. V. Filimonov, E. N. Efremenko, V. I. Kholstov, A. A. Yankovskaya* Biocatalysts based on bacteria-destroyers and enzymes of differ from high destructive capability chemical warfare agents and their degradation products in process of purification of soils and water..... 42
- K. K. Styazhkin, A. S. Tumanov, T. Ya. Ashikhmina, D. P. Kolesnikov, V. V. Teterin, I. P. Pogorelskiy, A. A. Leshchenko, A. G. Lazykin, A. R. Ziganshin* Experimental Assessing microbicidal and degradation potential of the biological product, organophosphorus compounds destructor..... 51
- S. A. Sharov, T. Ya. Ashikhmina* Adaptation of microbial biotechnology of soil remediation to real objects of rehabilitation 60
- L. V. Kondakova, L. I. Domracheva, S. Yu. Ogorodnikova, A. S. Olkova, N. A. Kudryashov, T. Ya. Ashikhmina* Bioindication and bioassay reaction of organisms to methylphosphonates and sodium pyrophosphate 63
- T. Ya. Ashikhmina, E. V. Tovstik, S. Yu. Ogorodnikova, I. G. Shirokikh* Study of the effect of some chemical weapons destruction products on soil actinomycetes..... 70
- E. V. Bryzgalina, V. L. Rud', D. A. Zygin, M. K. Belomytsev* The study of the processes of phosphorus-containing organic substances transformation of in the environment..... 76
- L. N. Anischenko, I. A. Balyasnikov, T. A. Rudakova* Lichenoindication of atmospheric air at chemically dangerous man-made objects 79
- D. A. Zygin, Yu. A. Egorova, M. A. Golishev* Some issues related to identification of organophosphorus agents at complex design ammunition destruction..... 85
- V. G. Mandysh, A. A. Ostrovskiy, O. V. Adysev, A. Yu. Karmishin, I. N. Isayev, Yu. A. Egorova, D. A. Zygin* Justification of the list of degradation of products of chemical agents of the kind Vx, which ensure its identification at destroying bomb-blocks..... 88
- I. V. Kovalenko, A. S. Lyakin, A. N. Comissarov, S. Yu. Konyakhin* Key aspects of using the simplest means of toxic substances control in relation to the process of decommission and mitigation of activities of weapons destruction plants 92

A. N. Comissarov, I. V. Kovalenko, A. S. Lyakin, R. R. Balkarov
Major trends in the development of the simplest means
of toxic substances control at chemical weapons storage
and destruction plants 96

*Yu. V. Novoydarsky, T. Ya. Ashihmina, I. G. Shirokikh,
L. I. Domracheva, S. Yu. Ogorodnikova* Methodological aspects
of preparing chemical weapons storage and destruction plants
for decommissioning..... 100

ECOTOXICOLOGY

*V. S. Romanov, E. V. Kinash, V. A. Berestov, E. I. Savelyeva,
N. L. Koryagina* The procedure of conducting chemical-toxicological
analysis of biological samples for determining the effect
to toxic substances on the body 105

**ISSUES
OF ENVIRONMENTAL
SAFETY
AND MEDICAL
SUPPORT STAFF
OBJECTS**

*B. N. Filatov, V. V. Klauchek, N. G. Britanov, N. V. Krylova,
L. A. Dobroshenko, A. S. Frolov, T. A. Charova, T. Ya. Dvorchik*
Medical and hygienic aspects of occupational safety and health
personnel at chemical weapons destruction plants..... 110

**PROVIDING
ECOLOGICAL
SAFETY**

D. D. Alekseyus, O. V. Kozlov, O. M. Plotnikova
The dynamics of zoobenthos in the Lakes area of the protective
zone of the chemical weapons destruction plant in Shchuch'ye
as a method of biological monitoring..... 116

L. N. Anischenko, I. A. Balyasnikov, T. A. Rudakova
Ecological aspects of phytomeliorations and restoration
of the land and water ecosystem with use of vascular plants
and moss 122

Information about the conference CHEMDET–2015 128

УДК 623.459.8

**Уничтожение запасов химического оружия в России
на завершающем этапе**

© 2014. В. И. Холстов, д.х.н., профессор, директор,
Департамент реализации конвенционных обязательств
Министерства промышленности и торговли Российской Федерации,
e-mail: holstov@minprom.gov.ru

В статье представлен материал о ходе выполнения четвёртого – завершающего этапа реализации Федеральной целевой программы в Российской Федерации. Введён в эксплуатацию седьмой российский объект уничтожения химического оружия в пос. Кизнер Удмуртской Республики. Отмечено, что на двух объектах в пос. Леонидовка Пензенской области и пос. Мирный Кировской области на завершающем этапе уничтожения химического оружия введены в эксплуатацию технологические линии по уничтожению боеприпасов сложной конструкции по технологии, разработанной российскими учёными. На объекте в г. Щучье Курганской области также завершается создание мощностей для уничтожения боеприпасов сложной конструкции. После уничтожения всех запасов химического оружия, хранившихся на российских арсеналах, планируется провести комплекс работ по реабилитации территорий, ликвидации последствий деятельности на объектах и перепрофилированию зданий, сооружений, всех систем обеспечения безопасности, энерго-, пожаро-, газо-, водоснабжения и других, оборудованных на основе самых современных технологий, для создания на их базе новых градообразующих промышленных предприятий в интересах развития регионов.

The article presents the implementation of the fourth, final stage of the Federal target program in Russia. The seventh Russian chemical weapons destruction plant is launched in the village. Kizner in the Udmurt Republic. It is noted that at the final stage of chemical weapons decommission in the two sites, in the village. Leonidovka in Penza region and in the village Murniy in Kirov region the first production line for destructing complex design ammunition is put into operation; this line has been developed by Russian scientists. Building the facility for decommission of complex design ammunition is finishing in the settlement Shchuchye in Kurgan region. After decommission of all chemical weapons stockpiles in Russian arsenals it is planned to perform complex works on rehabilitation of the areas, as well as at the sites, and conversion of the buildings, and of all systems of security, electricity, fire, gas, water and others with the most contemporary equipment. On their bases it is planned to create new township-forming enterprises for sustainable development of the regions.

Ключевые слова: химическое разоружение, завершающий этап, уничтожение боеприпасов сложной конструкции, обеспечение экологической безопасности, перепрофилирование.

Keywords: chemical disarmament, the final stage, destructing complex design ammunition, environmental security, conversion.

С 1996 года на территории шести субъектов России последовательно реализуется Федеральная целевая программа «Уничтожение запасов химического оружия в РФ». Из запланированных Программой 4-х этапов химического разоружения успешно в установленные сроки выполнены три. К настоящему времени построены и введены в эксплуатацию семь объектов по уничтожению химического оружия. Первым из них стал объект в пос. Горный Саратовской области, на котором в период с декабря 2002-го по апрель 2003 года был выполнен первый этап Программы – уничтожено 400 тонн химического оружия. Вторым в эксплуатацию был запущен объект по уничтожению химического оружия (ХО) в г. Камбарка Удмуртской

Республики, где уничтожение отравляющих веществ (ОВ) велось с 2005-го по 2009 год. Принимая во внимание, что на первых двух объектах «Горный» и «Камбарка» уничтожались кожно-нарывные отравляющие вещества, на объекте «Марадыковский» в пос. Мирный Кировской области, который был введён в строй третьим, впервые предстояло опробовать технологию уничтожения фосфорорганических отравляющих веществ. Эта технология впоследствии была также успешно реализована на объекте в пос. Леонидовка Пензенской области. Данные объекты внесли большой вклад в выполнение Российской Федерацией второго (2007 г.) и третьего (2009 г.) этапов химического разоружения по международной Конвенции.

В настоящее время в рамках четвёртого этапа уничтожение химического оружия осуществляется на объектах в пос. Мирный Кировской области, в пос. Леонидовка Пензенской области, в г. Щучье Курганской области, в г. Почеп Брянской области и в пос. Кизнер Удмуртской Республики.

Касаясь технологий уничтожения ХО, в первую очередь, следует отметить появление отечественных технологий детоксикации ОВ. В основе российских технологий лежит принцип химической деструкции ОВ при непосредственном взаимодействии его с дегазирующим реагентом. При этом отличительной особенностью данного процесса является его «мягкость» (взаимодействие ОВ и дегазирующего реагента осуществляется при относительно невысоких температурах в пределах 100°C). Достоинством является то, что ОВ теряет свои токсические свойства и перестаёт относиться к ХО уже после первой стадии.

Процесс детоксикации проводится в герметичном реакторе. Технологическая линия оснащена системой гарантированной очистки отходящих газов, системой автоматизированного управления и контроля процессом. Образующиеся реакционные массы подлежат переработке с целью понижения их токсичности с последующим захоронением на специальных полигонах либо, если представляют коммерческую ценность, перерабатываются в продукты, пригодные для реализации в промышленности (например, реакционные массы от уничтожения люизита, которые являются хорошим сырьём для получения высокотехнологичных мышьякосодержащих материалов для различных отраслей промышленности).

Уникальной также является технология детоксикации ОВ типа Vx непосредственно в корпусах авиационных боеприпасов методом гидролитического разложения. Такая технология является высокоэффективной и абсолютно безопасной. Впервые была реализована на объекте по уничтожению ХО «Марадыковский» и впоследствии была внедрена на объектах «Леонидовка» и «Почеп». Для уничтожения фосфорорганических ОВ из боеприпасов используются технологии с применением в качестве дегазирующего агента рецептуры РД – моноэтаноламина.

Следующим шагом в развитии технологической мысли явилась введённая в эксплуатацию в декабре 2012 г. на объекте «Леонидовка» первая технологическая линия по уничтожению боеприпасов сложной конструкции (БСК). В настоящее время технологическая

линия выведена на проектную мощность и успешно функционирует.

На объекте «Марадыковский» в ноябре 2013 г. также была смонтирована технологическая линия по уничтожению БСК. С этого времени на объекте начато промышленное уничтожение химических боеприпасов данной категории. В решении уникальной технической задачи по уничтожению БСК Россия стала первопроходцем, поскольку технологии уничтожения БСК разработаны российскими учёными и применены впервые в мировой практике. Безусловно, это большой успех отечественной и инженерной мысли. Нигде в мире такая задача ещё не решалась.

Учитывая значительные сроки хранения БСК, специфику их конструктивного исполнения, а именно: наличие в их составе не только ОВ, но и взрывчатых веществ (ВВ), установленных на «неизвлекаемость», необходимо было найти целый ряд технически сложных конструкторских решений и выполнить организационные мероприятия, направленные на обеспечение безопасности на всех стадиях процесса уничтожения БСК.

В основу процесса уничтожения БСК положена технология выполнения наиболее опасных операций, связанных с извлечением ОВ и окончательным уничтожением боеприпаса в камере подрыва, без участия человека. Эти стадии полностью автоматизированы, при этом всё используемое оборудование выполнено во взрывозащищённом исполнении.

Декабрь 2013 г. ознаменован пуском в эксплуатацию, на четвёртом – завершающем этапе, седьмого российского объекта «Кизнер» пос. Кизнер Удмуртской Республики, необходимого для полного уничтожения ХО. Основная технологическая линия этого объекта в апреле 2014 г. выведена на проектную мощность. В сентябре 2014 г. на объекте введён в эксплуатацию корпус термообезвреживания отходов.

В декабре 2014 г. на объекте в г. Щучье Курганской области выполнены основные строительные работы по созданию мощностей для уничтожения хранящихся там боеприпасов сложной конструкции.

В 2015 г. планируется уничтожить все боевые ОВ на четырёх объектах: «Леонидовка» в Пензенской области, «Марадыковский» в Кировской области, «Почеп» в Брянской области и «Щучье» в Курганской области. Завершить уничтожение планируется поочерёдно с сентября по декабрь. Совокупно к исходу 2015 г. будет уничтожено более 91% запасов химического оружия. Полная ликвидация

запасов боевых отравляющих веществ завершится уничтожением химического оружия на объекте «Кизнер» в Удмуртской Республике в срок до декабря 2020 года.

Последовательно выполняя все обязательства по Конвенции, Россия не только показывает всему мировому сообществу свою приверженность делу химического разоружения, но и демонстрирует научно-технические достижения российских учёных, высокий уровень подготовки специалистов и руководителей, занимающихся выполнением президентской программы «Уничтожение запасов химического оружия в РФ».

Стоит отметить, что разработка самой технологии уничтожения БСК, а также её аппаратное исполнение полностью принадлежит отечественным предприятиям, таким как: ОАО НПП «Химмаш-Старт» (г. Пенза), ОАО «НПО «Базальт» (г. Москва), ОАО «Красноармейский НИИ механизации» (г. Красноармейск), ФГУП «ГосНИИОХТ» (г. Москва), ОАО «НПО «Прибор» (г. Москва).

В нашей стране была также разработана и внедрена уникальная эффективная комплексная система промышленной и экологической безопасности. Программа имеет и значительный социальный аспект, благодаря которому улучшается инфраструктура регионов, повышается уровень жизни местного населения.

В рамках выполнения Программы Российская Федерация плодотворно сотрудничает с иностранными партнёрами по реализации Конвенции. Работы на всех российских объектах ведутся под постоянным наблюдением инспекторов международной Организации по запрещению ХО. В апреле 2014 г. в Москве состоялась встреча делегации Исполнительного совета Организации по запрещению химического оружия (ОЗХО) с председателем Государственной комиссии по химическому разоружению – полномочным представителем президента Российской Федерации в Приволжском федеральном округе М. В. Бабичем и Министром промышленности и торговли РФ Д. В. Мантуровым, на которой Генеральный директор Технического секретариата ОЗХО Ахмет Узюмджю отметил, что работа по уничтожению ХО в России идёт в соответствии с намеченными планами. Он высоко оценил усилия, а также отметил высокие материальные затраты, которые несёт Россия в реализации мероприятий в рамках Конвенции о запрещении химического оружия.

Делегация Исполсовета ОЗХО посетила объект «Кизнер» и на месте смогла оценить

масштабы задач, решаемых Россией в деле уничтожения запасов химического оружия.

Ещё пятнадцать лет назад многим казалось, что наша страна не сможет ни технологически, ни финансово вытянуть сложнейший процесс уничтожения ХО. Однако применяемые на всех объектах российские технологии уничтожения ХО оказались самыми надёжными в мире. На первых этапах России была обещана многомиллиардная помощь со стороны мирового сообщества. В конце 90-х – начале 2000-х годов за счёт технической помощи США, Великобритании, Германии, Нидерландов, Италии, Канады и др. государств на объектах российской программы ликвидации ХО было выполнено российскими и зарубежными компаниями и получено оборудования и запасных частей на сумму около 1 млрд. долларов (32,4 млрд. руб.). В настоящее время деньги из-за рубежа не поступают, и основное бремя расходов (на декабрь 2014 г. более 247 млрд. руб.) ложится на государственный бюджет. Следует также отметить, что западные санкции в отношении России, принятые в 2014 году рядом государств, технологически не повлияли на работу российских объектов по уничтожению химического оружия, поскольку иностранное оборудование и комплектующие изделия уже были поставлены. Вместе с тем, согласно Федерального закона «О ратификации Конвенции о запрещении химического оружия» № 138-ФЗ от 05.11.97 г. Президент Российской Федерации устанавливает сроки уничтожения химического оружия с учётом экономической ситуации в стране и необходимости использования наиболее безопасных технологий уничтожения химического оружия.

На завершающем этапе уничтожения ХО в России к первостепенным задачам относятся:

- ввод в эксплуатацию второго пускового комплекса по уничтожению артиллерийских химических боеприпасов на объекте «Кизнер» Удмуртской Республики;

- завершение строительства и ввод в эксплуатацию технологической линии уничтожения боеприпасов сложной конструкции на объекте «Щучье»;

- строительство и ввод в эксплуатацию полигонов для захоронения отходов.

Уничтожением последнего боеприпаса не заканчивается работа на объектах по хранению и объектах по уничтожению химического оружия. Министерство промышленности и торговли РФ разрабатывает федеральную целевую программу «Ликвидация последствий

деятельности объектов по хранению и объектов по уничтожению химического оружия в Российской Федерации на 2016–2022 годы». Предстоит большой объём работ по ликвидации последствий деятельности объектов. Территория, все специализированные здания и сооружения будут saniрованы с использованием соответствующих технологий. Далее предприятия планируется перепрофилировать. В настоящее время проводится подготовка нормативной правовой базы для вовлечения имущественных комплексов объектов в хозяйственный оборот после завершения их эксплуатации. Необходимо осуществить выбор наиболее перспективных инвестиционных проектов для использования имущественных комплексов данных объектов в экономике государства. Из регионов поступают предложения о строительстве на территории бывших объектов целлюлозно-бумажного комбината, предприятий по производству полиэтиленовой тары и целлофана, минеральных удобрений, комбикормов, получения чистого мышьяка и его соединений и др. предложения. Воплощение инвестиционных проектов будет осуществляться на основе использования механизма государственно-частного партнёрства. Эксперты по данному направлению деятельности планируют ещё раз оценить рентабельность будущих предприятий, их потенциальные мощности и оборудование.

В настоящее время также проводится работа по передаче из федеральной собственности в региональную или муниципальную объектов двойного назначения: газопроводы, инженерные сети, объекты энергетики и т. д.

Учитывая важность задачи безопасного уничтожения всех запасов химического оружия, обеспечения безопасности людей и окружающей среды Правительством Российской Федерации принят Федеральный закон от 2 мая 1997 г. № 76-ФЗ «Об уничтожении запасов химического оружия в РФ» с изменениями и дополнениями от 14 октября 2014 г. Подготовлен и принят в 2014 году ряд постановлений: от 24 сентября 2014 г. № 979 г. Москва «О внесении изменений в постановление Правительства Российской Федерации от 31 декабря 2004 г. № 899 «О порядке медицинского обслуживания и санаторно-курортного лечения граждан, занятых на работах с химическим оружием»; от 27 сентября 2014 г. № 989 г. «О внесении изменений в постановление Правительства Российской Федерации от 28 января 2002 г. № 66 «О порядке бесплатного обеспечения лекарственными средствами граждан, занятых на работах с химическим оружием, и граждан, получивших профессиональные заболевания в результате проведения работ с химическим оружием».

Правительством Российской Федерации, Министерством промышленности и торговли Российской Федерации, функции государственного заказчика в котором возложены на Департамент реализации конвенционных обязательств, Федеральным управлением по безопасному хранению и уничтожению химического оружия при Министерстве промышленности и торговли Российской Федерации принимаются все меры для выполнения взятых на себя конвенционных обязательств в области химического разоружения.

УДК 623.459

Выполнение завершающего этапа уничтожения запасов химического оружия в Российской Федерации

© 2014. В. П. Капашин, д.т.н., проф., генерал-полковник, начальник,
Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического оружия,
e-mail: fubhuho@yandex.ru

Уничтожение запасов химического оружия в России находится на завершающем, четвёртом этапе. Построен и запущен в эксплуатацию последний – седьмой объект по уничтожению химического оружия, расположенный в п. Кизнер Удмуртской Республики. Разработаны и внедрены на объектах «Леонидовка» (Пензенская область) и «Марадыковский» (Кировская область) новейшие технологии уничтожения боеприпасов сложной конструкции. В 2015 году уничтожение аналогичных химических боеприпасов начнётся и на объекте «Щучье» в Курганской области. Накопленный за прошедшие годы опыт работ позволяет с уверенностью смотреть в будущее и рассчитывать на успешное выполнение конвенциональных обязательств Российской Федерации по химическому разоружению.

Decommission of chemical weapons in Russia is at its last, fourth stage. The last, the seventh, plant of chemical weapons decommission has been built and it has already started to work in the settlement Kizner in the Udmurt Republic. New technologies of complex design ammunition decommissioning have been worked out and implemented at the plants «Leonidovka» in the Penza region and «Maradykovskiy» in the Kirov region. In 2015 they will start decommissioning complex design chemical aero-weapons at the «Shchuchye» plant in the Kurgan region. The experience of the past years makes sure in successful fulfilling the convention of the Russian Federation in the future.

Ключевые слова: Федеральная целевая программа, четвёртый завершающий этап, технологии уничтожения боеприпасов сложной конструкции, объекты социальной инфраструктуры, обеспечение экологической безопасности.

Keywords: the federal target program, the fourth final stage, the technology of decommissioning the complex design ammunition, social infrastructure objects, ensuring environmental safety.

Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического оружия при Министерстве промышленности и торговли Российской Федерации (далее по тексту – Федеральное управление) является организацией, которая несёт на своих плечах основную тяжесть работ по выполнению обязательств в области химического разоружения, принятых на себя Российской Федерацией в соответствии с Конвенцией о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении (далее по тексту – Конвенция).

В соответствии с Федеральной целевой программой «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации» (далее по тексту – Программа УХО) в Российской Федерации из запланированных четырёх этапов химического разоружения успешно выполнены три, причём третий этап – досрочно.

В апреле 2003 года на объекте «Горный» в Саратовской области уничтожено 400 тонн иприта, что составило 1% от общих запасов

отравляющих веществ (ОВ). К 29 апреля 2007 года уничтожено более 20% химического оружия категории 1 или более 8000 тонн ОВ. При этом на объекте «Горный» уже в декабре 2005 года были уничтожены все имевшиеся запасы химического оружия в объёме 1143,2 тонны, на объекте «Камбарка» уничтожено 3206 тонн люизита, а на объекте «Марадыковский», который внёс наибольший вклад в выполнение второго этапа, 3692 тонны ОВ типа Ви-икс. В ноябре 2009 года досрочно выполнен третий этап Программы УХО – уничтожено 18 тыс. тонн ОВ или более 45% всех запасов химического оружия [1, 2]. В настоящее время выполняется четвёртый этап, он завершится полным уничтожением запасов химического оружия. По состоянию на конец декабря 2014 года на всех российских объектах уничтожено около 85% запасов химического оружия.

Технологии уничтожения, применяемые на российских объектах, разработаны ответственными учёными совместно со специалистами Федерального управления, в том числе, и технологии уничтожения боеприпасов слож-

ной конструкции. Многие из них уникальны. И главное – они экологически безопасны, так как в основу их положен процесс гидролизной детоксикации ОВ [3, 4].

Боеприпасы сложной конструкции – это вид химических боеприпасов, отличающийся от обычных химических боеприпасов тем, что помимо ОВ в них содержатся взрывчатые вещества, установленные на неизвлекаемость. Технологии по уничтожению БСК впервые в мире были разработаны именно в России. Разработанные технологии успешно применяются Федеральным управлением на объектах «Леонидовка» (с 2012 года) и «Марадыковский» (с 2014 года). Объект «Щучье» будет третьим российским объектом, на котором в 2015 году будет происходить уничтожение БСК.

Процесс уничтожения БСК можно разделить на три стадии. Сначала боеприпас проходит контроль безопасности и разбирается. Затем боевые элементы БСК подаются на технологическую линию расснаряжения и уничтожения. Здесь из боевых элементов (БЭ) извлекается отравляющее вещество, которое направляется в реактор и подвергается детоксикации специальным реагентом. Корпус БЭ с взрывчатым веществом направляется в камеру уничтожения боевых элементов, где при высокой температуре происходит инициирование разрывного заряда. Вторая и третья стадии уничтожения БСК полностью автоматизированы, технологические процессы проходят без участия человека. Прочность камеры уничтожения боевых элементов рассчитана с 10-кратным запасом. Одновременно в такой камере может уничтожаться только один БЭ, что обеспечивает безопасность всего технологического процесса уничтожения [5].

Главными задачами 2014 года для Федерального управления являлись:

- выполнение показателей государственного оборонного заказа;
- обеспечение безаварийной эксплуатации объектов по уничтожению химического оружия;
- безопасное уничтожение запасов химического оружия;
- безопасное хранение химического оружия;
- завершение строительства и ввод в эксплуатацию корпуса «Установка термического обезвреживания отходов» объекта «Кизнер»;
- завершение строительства и ввод в эксплуатацию 2 объектов социальной инфраструктуры в п. Кизнер – детские сады на 190 и 150 мест.

Все задачи, возложенные на Федеральное управление, были выполнены в полном объеме.

В рамках выполнения Программы УХО по заявкам региональных органов власти возведены в эксплуатацию сотни жилых домов и общежитий, два десятка школ и дошкольных детских учреждений по современным проектам (с бассейнами, спортивными площадками, просторными залами, кабинетами и мастерскими). Построены десятки медицинских учреждений, спортивных и культурных объектов, мост через крупную реку в г. Пензе, газопроводы и водоводы. Проложены сотни километров коммуникаций, автомобильных дорог, капитально реконструированы энергоподстанции и газораспределительные станции и многое другое.

На всех этапах химического разоружения первостепенное внимание уделяется безопасности работающего персонала и жителей, проживающих в районах расположения объектов по хранению и уничтожению химического оружия, а также охране окружающей среды. Над проблемой обеспечения безопасности процесса уничтожения химического оружия работали и работают лучшие учёные-химики, технологи, инженеры и проектировщики – высокопрофессиональные специалисты нашей страны.

В соответствии с требованиями законодательства, под руководством Федерального управления, на объектах по УХО создана и функционирует система управления промышленной безопасностью. Разработана и действует необходимая нормативно-разрешительная документация в области промышленной безопасности и на проведение обследования технических устройств. Также для каждого объекта разработаны планы мероприятий по локализации и ликвидации последствий возможных аварийных ситуаций. Заключены договоры обязательного страхования гражданской ответственности за причинение вреда в результате аварии на опасном производственном объекте.

На объектах по хранению и уничтожению химического оружия созданы многоуровневые системы промышленного экологического мониторинга и государственного экологического контроля и мониторинга. За годы эксплуатации объектов по УХО содержания специфических загрязняющих веществ в окружающей среде не обнаружено. Состояние окружающей среды оценивается как удовлетворительное.

Созданная система промышленной безопасности и экологического контроля показав

ла, что запущенный механизм ликвидации химического оружия может работать без сбоев. Это подтверждается регулярными проверками специалистов Федерального медико-биологического агентства, международных наблюдателей, гражданских и военных надзорных органов. Мониторинг экологической ситуации и здоровья населения каких-либо отклонений за последние годы не выявил [6-9].

В 2015 году планируется завершить уничтожение химического оружия на всех действующих объектах, за исключением объекта «Кизнер». На повестку дня встаёт важный и актуальный вопрос по выводу объектов, на которых процесс уничтожения химического оружия будет завершён, из эксплуатации.

Федеральное управление приобрело опыт работ подобной направленности. В соответствии с поручением Минпромторга России Федеральным управлением в 2014 году был завершён первый этап работ по ликвидации последствий деятельности федерального казённого предприятия «Горный». Здания и сооружения промышленной зоны ФКП «Горный», в которых проводилось уничтожение отравляющих веществ, приведены в безопасное состояние и готовы к передаче потенциальному инвестору. Опыт работ показал, что подобные работы носят затратный характер, для вывода одного объекта по УХО из эксплуатации потребуется не менее 3-4 лет.

На основании результатов работ по выводу ФКП «Горный» из эксплуатации в 2014 году были разработаны проекты концепции и Федеральной целевой программы «Ликвидация последствий деятельности объектов по хранению и объектов по уничтожению химического оружия в Российской Федерации на 2016–2022 годы», а также подготовлены соответствующие обосновывающие материалы. Проект концепции направлен Минпромторгом России на согласование в Коллегию Военно-промышленной комиссии Российской Федерации. Мы ожидаем положительного решения в отношении утверждения концепции и программы.

Коллективу Федерального управления в 2015 году предстоит сосредоточить все усилия на выполнении четвёртого, завершающего этапа работ по Программе УХО. Это задача стратегической важности, поскольку в ней со-

средоточены интересы национальной безопасности страны. Результаты работ позволяют уверенно смотреть в будущее и рассчитывать на успешное выполнение конвенционных обязательств Российской Федерации по химическому разоружению.

Литература

1. Капашин В.П. Успешный ввод в эксплуатацию трёх новых объектов по уничтожению химического оружия – подтверждение Россией обязательств Конвенции // Теоретическая и прикладная экология. 2007. № 1. С. 8–11.
2. Капашин В.П., Афанасенко Е.П., Назаров В.Д. Выполнение Российской Федерацией третьего этапа работ в соответствии с положениями Конвенции о запрещении химического оружия // Теоретическая и прикладная экология. 2010. № 1. С. 19–26.
3. Кондратьев В.Б., Петрунин В.А. О принципах и структуре российских технологий крупнотоннажного уничтожения химического оружия // Теоретическая и прикладная экология. 2007. № 2. С. 12–19.
4. Кондратьев В.Б., Щелученко В.В., Корольков М.В., Ратушенко В.Г., Глебов В.С. и др. Особенности расснаряжения и уничтожения артиллерийских химических боеприпасов, снаряженных люизитом // Теоретическая и прикладная экология. 2011. № 4. С. 32–35.
5. Капашин В.П., Холстов В.И., Краснянский А.И. «Разработка технологии безопасного уничтожения боеприпасов сложной конструкции в снаряжении отравляющими веществами и неизвлекаемыми разрывными зарядами». Монография. М., ФУ БХ и УХО, 2014. – 95 с.
6. Капашин В.П. Экологическая безопасность уничтожения химического оружия – основа государственной политики по защите населения и окружающей среды // Теоретическая и прикладная экология. 2008. № 4. С. 11–15.
7. Опыт создания систем экологической безопасности объектов уничтожения химического оружия // Теоретическая и прикладная экология. 2007. № 2. С. 42–49.
8. Чупис В.Н. Экологический мониторинг объектов уничтожения химического оружия – опыт создания и перспективы развития // Теоретическая и прикладная экология. 2007. № 2. С. 35–41.
9. Ашихмина Т.Я. Научно-методические основы комплексного экологического мониторинга окружающей среды в районах объектов хранения и уничтожения химического оружия // Теоретическая и прикладная экология. 2007. № 2. С. 23–24.

Организационно-технические аспекты разработки исходных данных на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности объектов по хранению и уничтожению химического оружия

© 2014. А. Ю. Кармишин¹, к.т.н., начальник, Ю. Г. Радюшкин², к.т.н., зам. директора, Е. В. Брызгалина¹, к.э.н., начальник отдела, А. М. Ключев², к.т.н., начальник отдела, В. Л. Рудь¹, к.х.н., с.н.с., С. А. Белов², начальник отдела,

¹Научно-исследовательский центр Федерального управления по безопасному хранению и уничтожению химического оружия,

²«Государственный научно-исследовательский институт промышленной экологии»
Федеральной службы по надзору в сфере природопользования,
e-mail: wlrud2010@mail.ru, yraduyushkin@ingecros.ru

В статье изложены организационные и технические особенности при разработке исходных данных на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности объектов по хранению и уничтожению химического оружия как потенциально (химически) опасных объектов.

Целью разработки исходных данных (или предварительных исходных данных) является необходимость выдачи конкретных рекомендаций по внедрению результатов комплексного обследования объекта в технико-экономическое обоснование работ на ликвидацию последствий его деятельности.

Отмечено, что на этапе реформирования (перепрофилирования) стадия разработки исходных данных на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности объекта по хранению и объекту по уничтожению химического оружия является обязательной.

В основу методологии разработки исходных данных положен принцип, учитывающий тот факт, что после завершения всех работ по ликвидации последствий деятельности объектов имущественные производственные комплексы будут использованы в интересах государственных нужд или будут вовлечены в хозяйственный оборот страны на основе инвестиционных проектов.

Акцентировано внимание на том факте, что каждый объект отличается от других количеством и видами хранящихся на технической территории химическими боеприпасами и устройствами, количеством и типами отравляющих веществ, технологическим процессом их уничтожения на промышленной территории, способами утилизации реакционных масс и др. Всё это влияет как на качественный состав разрабатываемых исходных данных, так и на их количественные показатели.

На этапе перепрофилирования всех семи объектов стадия разработки исходных данных на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий их деятельности осуществляется за 1-2 года до завершения уничтожения химического оружия (отравляющих веществ) и (или) утилизации реакционных масс, то есть упреждающим способом, заранее, при функционирующем производстве на объекте.

The article describes the organizational and technical peculiarities in the development of initial data on the decommissioning and liquidation of the consequences of activity of objects of storage and destruction of chemical weapons as potentially (chemically) dangerous objects.

In order to develop baseline data (or preliminary baseline data) is the need to issue specific recommendations for the implementation of the results of a comprehensive survey of the object in the feasibility study work to eliminate the impact of its activities.

It is noted that at the stage of reform (conversion) development stage of initial data on decommissioning and eliminate the effects of the storage facility and facility for destruction of chemical weapons is mandatory.

The methodology of baseline data on the principle of taking into account the fact that after the completion of all work in the aftermath of the activities include proprietary production facilities will be used for public needs, or will be involved in the economic turnover of the country on the basis of investment projects.

Special attention is paid to the fact that each object is different from other types of number and stored in the technical area of chemical munitions and devices, the number and types of toxic substances, the process of destruction in the industrial area, method of disposal of the reaction mass, and others. All this affects both the developed qualitative composition of the original data, and their quantitative.

At the stage of conversion of all seven objects, stage of development of initial data on decommissioning and liquidation of the consequences of their activities carried out for 1-2 years to complete destruction of chemical weapons (toxic substances), and (or) disposal of the reaction mass, that is proactive way in advance, with a functioning production at the facility.

Ключевые слова: объект по хранению и уничтожению химического оружия, завершающий этап, перепрофилирование, исходные данные, вывод из эксплуатации, ликвидация последствий деятельности.

Keywords: chemical weapons storage and destruction plant, the final stage, conversion, initial data, decommission, decontamination of soil.

Введение

Подготовка любой архитектурно-строительной проектной документации, например, технико-экономического обоснования (ТЭО) проектирования, строительства или реконструкции объектов капитального строительства возможна лишь при наличии исходных данных или предварительных исходных данных на их проектирование, строительство или реконструкцию [1]. На разработку исходных данных (предварительных исходных данных) выдаётся техническое задание (ТЗ) заказчика с целью своевременного завершения, согласования и утверждения ТЭО проектирования, строительства или реконструкции объекта капитального строительства.

Перепрофилирование комплексов объектов по хранению и уничтожению химического оружия на завершающем этапе функционирования

Комплексы объектов по хранению и уничтожению химического оружия (ОХУХО) относятся к особо опасным, технически сложным и уникальным объектам капитального строительства [1].

На завершающем этапе функционирования ОХУХО – на этапе реформирования (перепрофилирования) – стадия разработки исходных данных (предварительных исходных данных) на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности (ЛПД) объекта по хранению химического оружия (ОХХО) и объекта по уничтожению химического оружия (ОУХО) является обязательной (табл. 1) [2–5].

Исходя из предназначения, структуры зданий (сооружений), их оснащения и прочих отличий, формирование исходных данных (предварительных исходных данных) для ОХХО и ОУХО имеет свои особенности.

Методология разработки исходных данных

В основу методологии разработки исходных данных (предварительных исходных данных) положен основополагающий принцип, учитывающий тот факт, что после завершения всех работ по ЛПД объектов

по хранению и объектов по уничтожению химического оружия имущественные производственные комплексы будут использованы в интересах государственных нужд или будут вовлечены в хозяйственный оборот страны на основе инвестиционных проектов. Данное обстоятельство вытекает из существования на объектах мощных инфраструктур, созданных за счёт средств федерального бюджета и включающих в себя современные энергетические, производственные, логистические и социальные базы.

С учётом накопленного опыта работ в данной сфере деятельности разработка исходных данных (предварительных исходных данных), в общем, должна включать ряд неперенных мероприятий:

- комплексное обследование территории и промышленных сооружений ОХУХО (технической территории и ОУХО);

- анализ результатов комплексного обследования территории и промышленных сооружений ОХУХО;

- определение классов опасности загрязнённых отравляющими веществами (ОВ) и продуктами их деструкции строительных материалов и технологического оборудования.

Комплексному обследованию, как правило, должны подвергаться следующие объекты и их элементы на ОХУХО [6]:

- почва и грунт на технической территории и в промышленной зоне;

- строительные конструкции и их покрытия внутри технологических корпусов и помещений (горизонтальные и вертикальные поверхности);

- технологическое оборудование в целом или его составные части;

- технологические воздухопроводы и другие продуктопроводы;

- КИП и А, прочее электрооборудование, кабельная продукция и др.

Комплексному обследованию по определению загрязнителей (согласно ТЗ) должны подвергаться также воздух рабочей зоны в производственных помещениях, пробы природных и сточных вод.

В процессе разработки исходных данных (предварительных исходных данных) решаются задачи по определению типа загрязнителя, границ зон заражения, уровней загрязнения, классов опасности строительных

Российские комплексы объектов по хранению и уничтожению химического оружия по состоянию на 1 апреля 2014 года

Комплекс ОХУХО	Характеристика
«Горный»	Завершено уничтожение химического оружия (ХО). Создано федеральное казённое предприятие. Находится в оперативном управлении ФУБХУХО. Разработано и утверждено ТЭО работ на ЛПД объекта. Осуществляются мероприятия по ликвидации последствий деятельности объекта
«Камбарка»	Завершено уничтожение химического оружия. Разработано и утверждено ТЭО работ на ЛПД объекта. Осуществляются мероприятия по выводу из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности объекта
«Марадыковский»	Функционирует как ОХУХО (уничтожено > 99 % запасов ХО). Разрабатываются ИД ¹⁾
«Леонидовка»	Функционирует как ОХУХО (уничтожено > 99 % запасов ХО). Разработаны ПИД ²⁾
«Щучье»	Функционирует как ОХУХО (уничтожено ~ 88 % запасов ХО). Разрабатываются ИД ¹⁾
«Почеп»	Функционирует как ОХУХО (уничтожено ~ 72 % запасов ХО). Разрабатываются ИД ¹⁾
«Кизнер»	В стадии строительства пусковыми комплексами. Функционирует как ОХУХО (на стадии пусконаладочных работ с инертными и реальными средами)

¹⁾ Исходные данные на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности ОХУХО.

²⁾ Предварительные исходные данные на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности ОХУХО.

конструкций, технологического оборудования, конструкционных материалов, отходов производства и потребления.

Кроме того, отдельной задачей может быть оценка возможного загрязнения производственной среды ОХУХО, функционирующей на момент комплексного обследования остановленных производств (на сегодня это объекты «Марадыковский», «Леонидовка», «Щучье» и «Почеп») [2–5]. Необходимо отметить, что в указанных источниках данная задача была апробирована методом наименьших квадратов (на примере объекта «Марадыковский») и проведена оценка сходимости прогностических величин с экспериментальными данными. Полученные результаты оценки показывают удовлетворительную сходимость рассматриваемых значений.

Как отмечено во введении к статье, исходные данные (предварительные исходные данные) разрабатываются и для проектирования, и для строительства, и для реконструкции объектов капитального строительства (каковыми и являются ОХУХО) [1]. На этапе реконструкции, то есть перепрофилирования всех семи ОХУХО, стадия разработки исходных данных (предварительных исходных данных)

на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий их деятельности осуществляется за 1-2 года до завершения уничтожения ХО (ОВ) и (или) утилизации реакционных масс (РМ). Разработка исходных данных (предварительных исходных данных) и ТЭО работ на ЛПД объекта (объектов) проводятся упреждающим способом (табл. 2), то есть заранее, при функционирующем(их) производстве(ах) на ОУХО в процессе уничтожения ХО (ОВ) и (или) утилизации реакционных масс. При этом обследование территории и промышленных сооружений и отбор проб ведётся на объектах как с завершёнными технологическими процессами (прямыми замерами загрязнённости [7]), так и на объектах с незавершёнными технологическими процессами (методами прогнозирования на время завершения уничтожения ХО [5]).

В ходе разработки исходных данных (предварительных исходных данных) на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности объекта (объектов) путём анализа результатов комплексного обследования должны быть определены [8, 9]:

– конкретные загрязнённые участки, локальные зоны и (или) точечные очаги загрязнения [10];

Таблица 2

Хронология завершающего этапа жизненного цикла объектов по хранению и уничтожению химического оружия

ОХУХО	Завершение		Разработка исходных данных	Разработчик исходных данных
	уничтожения ХО (ОВ)	утилизации РМ		
«Горный»	2005	2010	2008	ГосНИИОХТ
«Камбарка»	2009	2010	2009	ГосНИИОХТ
«Марадыковский»	Функционирует		2013 ¹⁾	ГосНИИЭНП
«Леонидовка»	Функционирует		2013 ²⁾	ГосНИИЭНП
«Щучье»	Функционирует		2013 ¹⁾	ГосНИИЭНП
«Почеп»	Функционирует		2013 ¹⁾	ГосНИИЭНП
«Кизнер»	Функционирует		Не ведётся	-

¹⁾ Выпущены промежуточные отчёты (этап II) о разработке исходных данных на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности объекта.

²⁾ Разработаны предварительные исходные данные на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности объекта.

– виды загрязнённых строительных и конструкционных материалов;

– глубины проникновения загрязнителей в материалы;

– классы опасности загрязнённых строительных и конструкционных материалов, узлов, агрегатов и отдельных элементов технологического оборудования, отходов производства и потребления;

– специальные меры по обезвреживанию строительных и конструкционных материалов и технологического оборудования [7];

– здания и сооружения, подлежащие обязательному демонтажу,

и оценены (рассчитаны):

– ориентировочные объёмы загрязнённых строительных конструкций (материалов), технологического оборудования, извлекаемых почвы и грунта;

– ориентировочные площади дегазации строительных конструкций и технологического оборудования;

– ориентировочные объёмы отходов для термического обезвреживания.

Результатом разработки исходных данных (предварительных исходных данных) должны быть также сведения, характеризующие загрязнённость воздуха рабочей зоны в производственных помещениях технологических корпусов, природных и сточных вод.

В заключении к исследованию необходимо выдать конкретные рекомендации по внедрению результатов комплексного обследования в ТЭО работ на ЛПД объекта (объектов), а именно:

– для разработки и реализации комплекса технических решений по дегазации зданий (сооружений);

– для обезвреживания компонентов окружающей (природной) среды;

– для реабилитации территории и рекультивации земель (для обеззараживания участков местности и обезвреживания локальных зон на ОХХО и ОУХО);

– при демонтаже и утилизации технологического оборудования;

– для утилизации отходов строительных конструкций, образующихся при демонтаже.

Если отходы, образующиеся при проведении мероприятий по выводу из эксплуатации и ЛПД объектов по хранению и уничтожению химического оружия, не могут быть применены в качестве ценных вторичных материалов, то наиболее приемлемым технологическим решением по их обезвреживанию является использование существующих на промышленной зоне ОУХО установок термического обезвреживания жидких и твёрдых отходов. Вне всякого сомнения, что на имеющиеся термические установки и их системы газоочистки будут ложиться дополнительные энергетические и массовые нагрузки. Тем не менее путь решения возникающих вопросов может лежать в оптимизации логистики массовых потоков и уточнении временного фактора функционирования производственного комплекса.

Каждый ОХУХО отличается от других количеством и видами хранящихся на технической территории химическими боеприпасами и устройствами, количеством и типами ОВ, технологическим процессом их уничтожения на промышленной территории, способами утилизации реакционных масс и т. д. (табл. 3).

Приведённые в таблице факторы влияют как на качественный состав разрабатываемых

ВЫПОЛНЕНИЕ РОССИЕЙ КОНВЕНЦИИ О ЗАПРЕЩЕНИИ ХИМОРУЖИЯ

Таблица 3

Факторы, влияющие на процессы вывода из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности комплексов объектов по хранению и уничтожению химического оружия

Комплекс ОХУХО (количество наименований хранящихся ОВ)	Хранящиеся запасы ХО и ОВ (химические боеприпасы, устройства, ёмкости)	ОВ для заполнения ёмкостей (снаряжения ХБП и У)	Технология уничтожения ХО (ОВ)	Переработка (утилизация) реакционных масс
«Горный» (5)	Ёмкости (цистерны, бочки, контейнеры)	КНОВ	«ДСТ» с МЭА или NaOH	Переработка. Термообработка. Битумирование
«Камбарка» (1)	Ёмкости (цистерны)	КНОВ	«НКТ» с NaOH	Переработка
«Марадыковский» (5)	АвХБП и У (АБ, ВП, ОБ, БАБ)	ФОВ и КНОВ	Методом залива реагента. «ДСТ» с МЭА или РД-4М	Термообработка. Битумирование
«Леонидовка» (4)	АвХБП и У (АБ, ВП, М, БАБ)	ФОВ	Методом залива реагента. «ДСТ» с РД-4М или МЭА	Термообработка
«Щучье» (5)	АрХБП (ССА, ГЧРС, ГЧР, БЭ)	ФОВ Фосген	«ДСТ» с МЭА или РД-4М. Промышленная переработка ...	Битумирование ... в тетраэтил-мочевину
«Почеп» (4)	АвХБП и У (АБ, ВП, М, ОБ)	ФОВ	Методом залива реагента. «ДСТ» с РД-4М или МЭА	Термообработка
«Кизнер» (4)	АрХБП (ССА, ГЧРС)	ФОВ и КНОВ	«ДСТ» с МЭА или РД-4М	Термообработка или битумирование

Примечание: АвХБП и У – авиационные химические боеприпасы и устройства; АБ – авиационная бомба; АрХБП – артиллерийские химические боеприпасы; БАБ – блок авиационных бомб; БЭ – боевой элемент; ВП – выливной прибор; ГЧР – головная часть ракеты; ГЧРС – головная часть реактивного снаряда; «ДСТ» – двухстадийная технология с использованием в качестве реагента ...; КНОВ – кожно-нарывное отравляющее вещество; М – модуль; МЭА – моноэтаноламин; «НКТ» – непрерывная крупнотоннажная технология с использованием в качестве реагента ...; ОБ – отсек баковый; РД-4М – рецептура полидегазирующая; ССА – снаряд ствольной артиллерии; ФОВ – фосфорорганическое отравляющее вещество; ХБП и У – химические боеприпасы и устройства; ХО – химическое оружие.

исходных данных, так и на их количественные показатели.

Заключение

Таким образом, стадия жизненного цикла ОХУХО – разработка исходных данных (предварительных исходных данных) на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности – является обязательной и имеет свои особенности для каждого объекта. Формирование этих исходных данных (предварительных исходных данных) необходимо для разработки ТЭО работ на ликвидацию последствий деятельности ОХХО и ОУХО с целью их дальнейшего использования или в интересах обеспечения обороны и безопасно-

сти государства, или других государственных нужд, или вовлечения в хозяйственный оборот страны в установленном порядке.

Литература

1. Градостроительный кодекс Российской Федерации (2004) с изменениями и дополнениями от 5 мая 2014 года № 131-ФЗ.
2. Радюшкин Ю.Г., Клюев А.М., Демахин А.Г., Расстегаев О.Ю., Родионцев И.А., Пономаренко С.М., Елисеев А.Д., Арбузов А.Ю., Белов С.А., Борзова Е.С., Макарова Н.М., Малишевский А.О., Черников С.Н., Танайлова Е.А., Грищенко К.Г., Козырев А.В., Беспалова Е.Ю. Разработка исходных данных на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности объектов по хранению и объектов по уничтожению хими-

ческого оружия в пос. Мирный Кировской области, пос. Леонидовка Пензенской области и г. Почеп Брянской области. Отчёт о НИР, этап II, промежуточный, книга 1 (шифр «Тройка»). Саратов: ГосНИИЭНП, 2013. 379 с.

3. Ключев А.М. Разработка исходных данных на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности объектов по хранению и объектов по уничтожению химического оружия в пос. Мирный Кировской области, пос. Леонидовка Пензенской области и г. Почеп Брянской области. Приложение к отчёту о НИР, этап II, промежуточный, книга 2 (шифр «Тройка»). Саратов: ГосНИИЭНП, 2013. 304 с.

4. Радюшкин Ю.Г., Ключев А.М., Расстегаев О.Ю., Родионцев И.А., Пономаренко С.М., Елисеев А.Д., Арбузов А.Ю., Белов С.А., Борзова Е.С., Макарова Н.М., Танайлова Е.А., Грищенко К.Г., Беспалова Е.Ю., Козырев А.В. Предварительные исходные данные на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности объекта по хранению и объекта по уничтожению химического оружия в пос. Леонидовка Пензенской области. Саратов: ГосНИИЭНП, 2013. 230 с.

5. Радюшкин Ю.Г., Ключев А.М., Демахин А.Г., Расстегаев О.Ю., Родионцев И.А., Пономаренко С.М., Елисеев А.Д., Арбузов А.Ю., Белов С.А., Борзова Е.С., Макарова Н.М., Козырев А.В., Малишевский А.О., Танайлова Е.А., Грищенко К.Г., Труханов А.В. Разработка исходных данных на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности объекта по хранению и объекта по уничтожению химического оружия в г. Щучье Курганской области. Отчёт о НИР, этап II, промежуточный (шифр «Двойка»). Саратов: ГосНИИЭНП, 2013. 163 с.

6. Воробьев Т.В., Брызгалина Е.В., Романов В.С., Червякова А.М., Берестов В.А., Мариничева М.А., Глушков В.А., Тулупов С.Ю., Адысев О.В., Рудь В.Л.,

Коваленко И.В. Основные положения, порядок организации и осуществления федерального государственного санитарно-эпидемиологического надзора и санитарно-химического контроля за состоянием производственной и окружающей среды при выводе из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности объекта по уничтожению химического оружия «Горный» (пос. Горный Саратовской области). Отчёт о НИР (шифр «Надзор»). М.: НИЦ ФУБХУХО, 2013. 59 с.

7. Кармишин А.Ю., Воробьев Т.В., Брызгалина Е.В., Кинаш Е.В., Сипаков А.С., Романов В.С., Карпов А.В., Лякин А.С., Рудь В.Л., Берестов В.А. Проведение испытаний по оценке результативности дегазации поверхностей технологического оборудования и строительных конструкций с применением полидегазирующей рецептуры ПДР «Макс» на промышленной территории ФКП «Горный». Технический отчёт (инв. № 2925). М.: НИЦ ФУБХУХО, 2013. 103 с.

8. Акишин Р.О., Лякин А.С. Научно-технические аспекты ликвидации последствий деятельности объектов по хранению и уничтожению химического оружия // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 4. С. 13–16.

9. Шевченко А.В., Лякин А.С. О реформировании системы государственного экологического контроля и мониторинга за безопасным функционированием объектов по хранению и уничтожению химического оружия и состоянием окружающей среды // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 2(14). С. 79–85.

10. Лякин А.С. Способы приведения в безопасное состояние территорий и объектов инфраструктуры при выводе из эксплуатации объекта по хранению и уничтожению химического оружия «Горный» (пос. Горный Саратовской области) // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 4. С. 17–20.

Возможные перспективы использования солевых отходов, образующихся при термической обработке реакционной массы от фосфорорганических отравляющих веществ

© 2014. Т. В. Воробьёв, к.т.н., начальник управления,
Д. А. Зыгин к.х.н., начальник отдела, Е. А. Василькова, н.с.,
Научно-исследовательский центр Федерального управления
по безопасному хранению и уничтожению химического оружия,
e-mail: fubhuho@mail.ru

Материал данной статьи включает технико-экономическую оценку использования твёрдых солевых отходов, образующихся после термической переработки реакционных масс, содержащих сульфаты, фосфаты и фториды кальция, калия на объектах хранения и уничтожения химического оружия. Анализ различных вариантов показал, что наиболее рентабельно использовать кальциевые и калиевые соли в смеси сульфатов и фосфатов в качестве сырья для производства фосфорных и смешанных фосфорно-калиевых удобрений. Наряду с этим предлагается отходы, образующиеся в виде попутных продуктов, содержащие сульфаты кальция, использовать в производстве строительных материалов (цементов, гипсов, керамических материалов и т. д.). Рассматривается вариант размещения для этих целей производств солевых отходов на нескольких объектах уничтожения химического оружия, однако наиболее эффективным путём утилизации солевых отходов является их безвозмездная или возмездная передача третьим лицам.

The paper includes technoeconomic assessment of using solid salt residues formed after thermal treatment of the reaction masses containing sulfates, phosphates, and fluorides of calcium and potassium at chemical weapons storage and destruction plants. Analysis of the various variants has revealed that it is the most profitable to use calcium and potassium salts of a mixture of sulfates and phosphates as a raw material for the producing phosphoric and mixed phosphorous-potassium fertilizers. In addition, we offer to use the wastes, the by-products containing calcium sulfates, in producing building materials (cement, plaster, ceramic materials, etc.). For this purpose we consider accommodation of salt waste production at several chemical weapons destruction plants, though the most effective way of salt waste recycling is their transfer to the third parties, either free of charge or for a fee.

Ключевые слова: солевые отходы, технико-экономическая оценка переработки, минеральные фосфорные удобрения, производство портландцемента.

Keywords: salt waste, technical and economic assessment of processing, mineral phosphate fertilizers, Portland cement production.

Утилизация отходов промышленных производств является очень важной проблемой, решение которой способствует снижению негативного воздействия опасных производственных объектов на окружающую природную среду.

Уничтожение реакционных масс, образовавшихся в результате детоксикации фосфорорганических отравляющих веществ, в Российской Федерации предусматривается осуществлять двумя способами: на объекте по уничтожению химического оружия «Щучье» Курганской области методом битумирования, а на других объектах с использованием высокотемпературных методов.

В настоящее время на объектах по уничтожению химического оружия «Марадыков-

ский» Кировской области и «Леонидовка» Пензенской области реакционная масса, получаемая при уничтожении фосфорорганических отравляющих веществ, уничтожается методом термической деструкции. При этом образующиеся газовые потоки, в основном представляющие собой оксиды фосфора и серы, через камеру дожигания направляются в систему очистки отходящих газов. Установка очистки отходящих газов состоит из реакторов-охладителей (полые прямоточные скрубберы с конфузным входом газов) и двух параллельно установленных рукавных фильтров.

Для снижения температуры дымовых газов после реакторов-охладителей до необходимой величины – 200°C перед рукавными

фильтрами предусматривается узел подсоса атмосферного воздуха.

Дымовые газы, отходящие от печей сжигания реакционных масс, подлежат обработке 20%-ной суспензией гидроксида кальция в реакторах-охладителях. Количество воды в поглотительной суспензии определяется из расчёта её расхода на испарительное охлаждение дымовых газов в реакторе.

В скрубберах осуществляется так называемая «полусухая абсорбция», заключающаяся в очистке дымовых газов за счёт абсорбции удалённых газообразных примесей каплями суспензии поглотителя – гидроксида кальция. Образовавшиеся твёрдые частицы частично осаждаются в реакторе, а остальные уносятся вместе с дымовыми газами на вторую ступень очистки – рукавные фильтры. Очищенные от взвешенных частиц в рукавном фильтре дымовые газы вентиляторами отводятся в дымовую трубу. Уловленные в аппаратах газоочистки продукты отводятся из них через шлюзовые питатели в транспортную систему, по которой подаются в накопительный бункер. Из бункера твёрдые отходы затариваются в бочки ёмкостью 200 л.

В процессе очистки газовых потоков в скруббере и рукавном фильтре образуются солевые отходы, содержащие $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaCO_3 , CaHPO_4 , CaSO_4 , количественное соотношение которых зависит от состава утилизируемой реакционной массы.

При сжигании реакционных масс, полученных в процессе детоксикации фосфорор-

ганических отравляющих веществ, отходами производства являются смеси солей, которые отличаются по составу в зависимости от того, какого состава сжигается реакционная масса.

Разнообразие солевых отходов возрастает при детоксикации фосфорорганических отравляющих веществ рецептурой, содержащей изобутилат калия, что приводит к наличию в солевых смесях калиевых солей.

На объекте по уничтожению химического оружия «Кизнер» в Удмуртской Республике в расчётах принято, что в системе очистки дымовых газов будет использоваться гидроксид кальция.

В таблице 1 приведены все составы солевых отходов, которые будут получаться на объектах по уничтожению химического оружия при уничтожении фосфорорганических отравляющих веществ по технологиям, принятым в установленном порядке для каждого из них. Из приведённых в таблице 1 данных по составу образующихся солевых отходов следует, что при сжигании различных видов реакционных масс на всех объектах по уничтожению химического оружия будут образовываться следующие разновидности солевых отходов.

В таблице 2 приведён химический состав солевых отходов.

На основании материальных балансов и реальном опыте эксплуатации установки термической переработки реакционных масс на объекте «Марадыковский» был проведён расчёт общего количества солевых отходов, образующихся на каждом объекте по уничто-

Таблица 1

Составы солевых отходов, образующихся на объектах по уничтожению химического оружия при сжигании реакционных масс от дегазации зарина, зомана и отравляющего вещества типа Vx

№ п/п	Наименование объекта по УХО	Характеристика РМ	Щелочной агент в системе очистки	Состав солевого отхода
1	«Марадыковский»	РМ от гидролизата ОВ типа Vx РМ от ОВ типа Vx с РД-4М РМ от зомана с РД-4М РМ от зарина с МЭА	$\text{Ca}(\text{OH})_2$ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ $\text{Ca}(\text{OH})_2$	CaSO_4 ; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ CaSO_4 ; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; K_2SO_4 ; K_3PO_4 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; KF ; CaF_2 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; CaF_2
2	«Леонидовка»	РМ от гидролизата ОВ типа Vx РМ от ОВ типа Vx с РД-4М РМ от зомана с РД-4М РМ от зарина с МЭА	$\text{Ca}(\text{OH})_2$ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ $\text{Ca}(\text{OH})_2$	CaSO_4 ; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ CaSO_4 ; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; K_2SO_4 ; K_3PO_4 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; KF ; CaF_2 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; CaF_2
3	«Кизнер»	РМ от ОВ типа Vx с РД-4М РМ от зарина с МЭА РМ от зомана с МЭА	$\text{Ca}(\text{OH})_2$ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ $\text{Ca}(\text{OH})_2$	CaSO_4 ; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; K_2SO_4 ; K_3PO_4 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; CaF_2 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; CaF_2
4	«Почеп»	РМ от гидролизата ОВ типа Vx РМ от ОВ типа Vx с РД-4М РМ от зомана с РД-4М РМ от зарина с РД-4М	$\text{Ca}(\text{OH})_2$ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ $\text{Ca}(\text{OH})_2$	CaSO_4 ; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ CaSO_4 ; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; K_2SO_4 ; K_3PO_4 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; KF ; CaF_2 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; KF ; CaF_2

Таблица 2

Разновидности солевых отходов

Тип смеси	Химический состав смеси
Смесь кальциевых солей	CaSO ₄ , Ca ₃ (PO ₄) ₂ , CaF ₂
Смесь кальциевых и калийных солей	CaSO ₄ , Ca ₃ (PO ₄) ₂ , K ₂ SO ₄ , K ₃ PO ₄ , KF

жению химического оружия при термическом уничтожении указанных реакционных масс.

В соответствии с проведёнными исследованиями солевые отходы, образующиеся при термическом обезвреживании реакционной массы гидролизата ОВ типа Vx, в соответствии с требованиями приказа № 511 Министерства природных ресурсов от 15 июня 2001 г. относятся ко второму и третьему классу опасности.

В настоящее время установлен класс опасности только для солевых отходов, образующихся при термическом уничтожении реакционной массы гидролизата ОВ типа Vx на объекте по уничтожению химического оружия «Марадыковский» в соответствии со СНиП 2.01.28-85 «Полигоны по обезвреживанию и захоронению токсичных промышленных отходов. Основные положения по проектированию». Проведён ориентировочный сводный расчёт стоимости строительства полигона захоронения данного вида солевых отходов, который показал, что стоимость строительства данного полигона захоронения без учёта затрат на его эксплуатацию, а также перевозку и растаривание солевых отходов, составит около 74,5 млн рублей.

Однако захоронение солевых отходов от уничтожения реакционных масс фосфорорганических отравляющих веществ экономически нерентабельно, особенно от зарина и зомана из-за содержания в них хорошо растворимого в воде KF (ПДН 1,5 мг/л, растворимость 95 г на 100 г воды), что потребует создания специальных хранилищ.

При современном уровне и масштабах потребления природных сырьевых материалов значение фактора полноты использования и вовлечения в общественное производство вторичных материальных ресурсов имеет первостепенное значение. Роль этого фактора особенно велика при оценке экономической эффективности народного хозяйства в различных его отраслях, в том числе отходов различных производств, сельского хозяйства и некондиционных природных полезных ископаемых.

Комплексное использование сырья и отходов важно ещё и потому, что оно связано с решением проблемы создания безотходных и экологически чистых промышленных технологий. Разработка и освоение безотходных технологий имеют важное значение для предприятий химической, горнохимической,

Таблица 3

Количество образующихся солевых отходов (с учётом опыта эксплуатации установки термической переработки реакционных масс объекта «Марадыковский»)

№ п/п	Наименование объекта по уничтожению ХО	Характеристика РМ	Количество образующихся солей, т
1	«Марадыковский»	РМ от гидролизата ОВ типа Vx	9316
		РМ от ОВ типа Vx с РД-4М	59
		РМ от зомана с РД-4М	2990
		РМ от зарина с МЭА	610
2	«Леонидовка»	РМ от гидролизата ОВ типа Vx	9048
		РМ от ОВ типа Vx с РД-4М	1472
		РМ от зомана с РД-4М	2310
		РМ от зарина с МЭА	700
3	«Кизнер»	РМ от ОВ типа Vx с РД-4М	643
		РМ от зарина с МЭА	10267
		РМ от зомана с МЭА	2893
4	«Почеп»	РМ от гидролизата ОВ типа Vx	8239
		РМ от ОВ типа Vx с РД-4М	1727
		РМ от зомана с РД-4М	3704
		РМ от зарина с РД-4М	538
Итого:			54515

микробиологической, металлургической, угольной, строительной и других ресурсоёмких отраслей промышленности.

В этой связи для солевых отходов проведены необходимые расчёты по их основным параметрам, характеризующим любой промышленный отход: химико-минералогический состав, агрегатное состояние и объём образования.

Солевые отходы, образующиеся при термической переработке реакционных масс от фосфорорганических отравляющих веществ, после соответствующей обработки целесообразно использовать в качестве сырьевой добавки при производстве минеральных удобрений или строительных материалов. Поэтому анализ возможности использования солевых отходов проводился по данным направлениям.

Также были проведены токсиколого-гигиенические исследования солевых отходов на гидробионтах. В качестве тест-организмов использовались низшие ракообразные *Daphnia magna* Straus и пресноводные водоросли *Scenedesmus quadricauda*. Исследования показали, что солевые отходы относятся к 4-му классу опасности (малоопасные) [1].

Анализ различных вариантов показал, что наиболее рентабельно использовать кальциевые соли, смесь сульфата, фосфата, возможно с наличием фторидов, в качестве сырья для производства фосфорных и смешанных фосфорно-калиевых удобрений. Это направление имеет большой производственный масштаб, на уровне миллионов тонн в год. Кроме того, на данных производствах применяется сырьё разного состава солей, что даёт на последующих этапах возможность выбрать наиболее рациональный вариант с позиции как технологической, так и экономической целесообразности.

Известно, что фосфор входит в состав белковых веществ, поэтому уносится растениями из почвы, показано также, что потери фосфора не восполняются естественным путём. В связи с этим для успешного ведения сельского хозяйства искусственное обогащение почвы фосфорными удобрениями – крайне необходимая мера. В пользу этого говорят объёмы производств в развитых странах мира [2–6].

Исследования показали, что содержание P_2O_5 в солевых отходах от уничтожения фосфорорганических отравляющих веществ составляет не менее 30%, вместе с тем в отличие от природных фосфатных удобрений шлам не изобилует широким спектром примесей. Этот факт позволяет сделать вывод

о целесообразности использования солевых отходов в качестве сырья для производства фосфорных удобрений.

В связи с тем, что в составе солевых отходов основной вклад в возможную сферу применения оказывают сульфат и фосфат кальция, был проведён анализ сырьевых ресурсов, используемых в производстве строительных материалов.

Исследование системы $CaSO_4-H_2O$ имеет важное научное и практическое значение, так как оно связано с проблемой производства и применения гипсовых вяжущих веществ.

Попутные продукты, содержащие сульфаты кальция, можно использовать как добавку-регулятор процессов схватывания при производстве портландцемента. При этом, в сравнении с производством гипсовых вяжущих веществ, затраты на подготовку попутного продукта могут быть невысокими. В соответствии с требованиями цементной промышленности попутный продукт гранулируется, регламентируется влажность, зерновой состав гранул. По возможному объёму переработки попутных продуктов их использование в качестве добавки к клинкеру портландцемента занимает второе место после производства гипсовых вяжущих веществ.

Для этих целей возможно использовать фосфогипс, схожий по составу с имеющимися на объекте по уничтожению химического оружия «Марадыковский» соевыми отходами. Фосфогипс содержит примеси (фторидов, фосфатов), которые могут отрицательно влиять на гидратацию клинкерных минералов портландцемента и прочность искусственного камня, поэтому фосфогипс, содержащий повышенное количество примесей, иногда обогащают [7–9].

При производстве портландцемента некоторые попутные продукты, содержащие сульфаты кальция, можно использовать в качестве компонентов сырьевой смеси.

Общее количество солевых отходов на всех объектах по уничтожению химического оружия при переработке всех фосфорорганических отравляющих веществ составит около 55000 т. Из них по предложенным технологическим вариантам может быть получено ориентировочно 36000 т фосфорных удобрений.

В настоящее время годовое производство фосфорных удобрений в Российской Федерации составляет более 5 млн т.

Таким образом, количество фосфорсодержащих удобрений, которое может быть получено при уничтожении всех запасов фос-

форорганических ОВ, составляет около 0,5% от годового производства [10].

В связи с этим наиболее целесообразно рассматривать вопрос передачи солевых отходов на заводы-производители минеральных удобрений. При этом необходимо провести опытные работы с использованием реальных солевых отходов и определить оптимальные условия, на каких стадиях и в каких соотношениях допустимы добавки солевых отходов в технологическом процессе производства удобрений.

Рассматривая вопрос использования солевых отходов в промышленности строительных материалов, очевидно, что объём выпуска продукции здесь в сотни раз превышает объёмы выпуска минеральных удобрений, в соответствии с чем использование солевых отходов в качестве самостоятельного сырья не представляется экономически целесообразным.

Аналогичные подходы применяются и при рассмотрении возможности организации нового производства, а также организации на паритетных началах производства на действующих предприятиях химического, нефтехимического и строительного комплексов, где солевые отходы от реакционных масс фосфорорганических отравляющих веществ могут быть использованы в качестве исходного сырья или сырьевых добавок.

Сравнительно небольшие объёмы имеющегося сырья, в качестве которого выступают солевые отходы, размещение производств солевых отходов на нескольких объектах по уничтожению химического оружия в разных регионах Российской Федерации, а также отличие в качественном и количественном составе, и соответственно, в физико-химических свойствах, позволяют сделать однозначный вывод о том, что единственным эффективным

путём утилизации солевых отходов является их безвозмездная (возмездная) передача третьим лицам.

Таким образом, предварительная технико-экономическая оценка различных путей обращения с солевыми отходами позволяет сделать однозначный вывод: приоритетным направлением при проведении дальнейших исследований должна стать ориентация на потребности ведущих предприятий – производителей продукции на основе минеральных веществ, в частности производства строительных материалов (цементов, гипсов, керамических материалов и т. д.), а также минеральных удобрений (фосфатов, суперфосфатов).

Литература

1. Об утверждении критериев отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды / МПР Приказ от 15 июня 2001 г. № 511.
2. Корбридж Д. Фосфор. М. 1982. 680 с.
3. Соколовский А.А., Унанянц Т.П. Краткий справочник по минеральным удобрениям. М.: «Химия», 1977. 376 с.
4. Эвенчик С.Д., Бродский А.А. Технология фосфорных и комплексных удобрений. М.: «Химия», 1987. 464 с.
5. Турчин Ф.В. Минеральные удобрения и их применение. М.-Л.: Изд. АН. СССР, 1943. 88 с.
6. Соколов А.В. Агрохимия фосфора. М.-Л.: Изд. АН. СССР, 1950. 152 с.
7. Соколов Р.С. Химическая технология. Москва: Владос, 2000. Т. 1. 368 с.
8. Позин М.Е. Технология минеральных солей 1970. Ч. 2. С. 793–1558.
9. Лидин Р.А., Молочко В.А., Андреева А.Л. Химические свойства неорганических веществ. М.: «Химия», 1997. 479 с.
10. Научно-технический отчёт по НИР «Шлам». ФГУП «ГосНИИОХТ», 2009 г. 163 с.

УДК 577.15+502.55

Биотехнологические методы и нейтрализующие средства для обеззараживания почв и очищения вод, загрязнённых экотоксикантами

© 2014. Н. В. Завьялова¹, д.б.н., г.н.с., И. В. Филимонов¹, к.т.н., с.н.с.,
Е. Н. Ефременко², д.б.н., зав. лабораторией, В. И. Холстов³, д.х.н., директор,
А. А. Янковская⁴, офицер отдела,

¹27 Научный центр Минобороны России,

²Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,

³Департамент реализации конвенциональных обязательств Министерства
промышленности и торговли Российской Федерации,

⁴Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического оружия,
e-mail: natzavjalova@rambler.ru

В статье представлен обзор данных литературы за последние тридцать лет по биотехнологическим методам и биокатализаторам, которые были использованы для обеззараживания и очищения почв и вод, загрязнённых токсичными экотоксикантами.

Статья содержит анализ данных по разработке технологий и комплексов нейтрализующих средств для обеззараживания и очищения почв и вод. Проведённый анализ показал, что для очистки почв и вод, загрязнённых токсичными экотоксикантами, могут быть использованы ферменты, отдельные штаммы микроорганизмов-деструкторов и различные их консорциумы, как в иммобилизованном виде, так и их суспензии.

Установлено, что механизмы и схемы проведения биологической деградации экотоксикантов и продуктов их деструкции в водных растворах и почвах могут быть различными для разных штаммов микроорганизмов-деструкторов, их консорциумов и ферментов. Предложено при разработке биотехнологий по очистке почв и вод от загрязнений экотоксикантами учитывать активность фермента, видовое происхождение используемого в технологии микроорганизма или состав консорциума, их биодеградирующие свойства, особенности поведения в сообществе с различными природными штаммами, способность к изменчивости в условиях неоднородности субстрата, а также характеристики почв и факторы, влияющие на механизм и скорость биодеградации.

The work presents an overview of the literature over the last thirty years by biotechnological methods and biocatalysts, which may be used for disinfection of soil and purification of water contaminated of ecotoxicants.

It was formed that mechanisms and schemas of realization of degradation toxicants and their degradation products in their destruction in water solutions and soils may be different from various strains of microorganism-destructors, their consortiums and ferments. It was proposed that during development biotechnologies for purification soils and water from toxic substances it's necessary to take into consideration the enzyme's activity, specific origin used in technology of microorganism or structure of consortium, their feature of biodegradation, their special properties at the community with different strains. Capacity to changeability in terms of heterogeneity of the substrate, and characteristics of soils and factors which influencing on the mechanism and velocity of biodegradation.

Ключевые слова: бактерии-деструкторы, биокатализатор, биоремедиация почв
и очистка вод, нейтрализующие средства, фермент, экотоксиканты.

Keywords: bacteria-destructors, biocatalysts, bioremediation of soils and water purification,
neutralizing agents, enzyme, ecotoxic substances.

Введение

По мере завершения процесса уничтожения запасов ОВ возникают задачи вывода из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности ОУХО. Указанные задачи включают выявление загрязнений территорий продуктами детоксикации специфических веществ, разработку эффективных и малозатратных технологий обеззараживания и очищения

почв и вод, а также нейтрализующих средств, обеспечивающих экологическую безопасность.

Создание биопрепаратов (биокатализаторов) и разработка биотехнологий обеззараживания, очистки и восстановления загрязнённых почв и вод в местах бывшего производства, хранения и уничтожения ОВ, которые способны устранить экологическую нагрузку и обеспечить деструкцию отходов

промышленного уничтожения ХО и очистить загрязнённые почвы и воды [1, 2].

В отличие от других методов деструкции токсичных веществ, использование штаммов микроорганизмов-деструкторов и ферментов выгодно отличается отсутствием вторичных отходов, высокой степенью деградации, возможностью полной ассимиляции продуктов [3–5].

В качестве конечных продуктов при биотехнологической деструкции экотоксикантов образуются углекислый газ, метан, вода и неорганические соли [6–10].

Исследования, проведённые ранее отечественными и зарубежными учёными, показали, что используя методы биодegradации реакционных масс, биоремедиации загрязнённых почв и очистки вод, можно достичь полного разрушения продуктов детоксикации ОВ и повышения уровня восстановления почв и вод за счёт уничтожения попавших в них токсичных химикатов [11–15]. Детоксикация осуществляется за счёт полной минерализации с помощью микроорганизмов-деструкторов и ферментов, выделенных из клеток бактерий [16–31].

Биотехнологические методы очистки почв становятся всё более популярными в Европе и США. В Германии свыше 50 компаний, а в США ещё большее их количество предлагают свои услуги по очистке почв при помощи микроорганизмов и ферментов.

Использование биокатализаторов на основе штаммов микроорганизмов и ферментов, обладающих повышенной способностью к катализу разложения экотоксикантов в процессе очистки почв и вод

Использование природных микроорганизмов для восстановления нарушенных экосистем занимает приоритетное место в программах по охране окружающей среды многих стран, в том числе и США [32].

Известно, что разложение чужеродных веществ микроорганизмами протекает за счёт включения в реакции гидролиза, окисления, восстановления, дегалоидирования, изомеризации, полимеризации и др. Такую активность проявляют бактерии родов *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Vibrio* и др., обеспечивая при этом полную минерализацию разлагаемых промышленных загрязнителей, что, в свою очередь, снижает содержание вредных веществ в окружающей среде до концентраций, не превышающих предельно допустимых значений [33–38]. По оценкам компании Falmouth As-

sociates, биологическое обезвреживание отходов требует приблизительно в 10 раз меньше затрат, чем общепринятые методы, например, озоление.

Так, фирма Biota при использовании штаммов микроорганизмов-биодegradантов сократила расходы на очистку 15 тыс. м³ загрязнённой нефтью почвы в четыре раза по сравнению с расходами при традиционной технологии удаления и транспортировки загрязнённой почвы [32].

Широкое распространение получили микроорганизмы-деструкторы и ферменты при восстановлении загрязнённых территорий военных объектов. Комплексные программы по деконтаминации почв и подземных вод на этих полигонах применительно к углеводородам нефти, растворителям, токсинам, кислотам и тяжёлым металлам разрабатываются биотехнологической группой министерства обороны США. Большое внимание этой группой уделяется разработке биотехнологических подходов для дегазации ОВ [39].

Рядом специализированных компаний (Ecova, Envirogen, Biota, Biotrol, Celgene, Falmouth Associates, Biodetox, GmbH и др.) используются биологические способы, которые являются наиболее простыми и экономически выгодными для очистки окружающей среды. Соответствующие технологии находят применение более чем в 100 фирмах, и их дальнейшее распространение является одним из наиболее развивающихся секторов коммерческой деятельности [40–42]. Информация о конкретных разработках в этой области носит конфиденциальный характер, а важные технологические сведения патентуются. Проведённые различными фирмами крупномасштабные биовосстановительные работы включали в себя глубокую научную проработку каждого экотоксиканта и выполнение экспериментальных исследований в полевых условиях.

Биотехнологии, использующие биокатализаторы, основываются на применении биореакторов для обработки сточных вод, а также смесей почвы и воды, или на проведении обработки *in situ* за счёт стимуляции роста природных микроорганизмов-деструкторов путём проведения аэрации и введения питательных веществ и биопрепаратов (биокатализаторов) на основе иммобилизованных бактерий-деструкторов или ферментов [41–43].

Включение в производственный процесс специального биореактора способствовало снижению на 99,9% концентраций метилхлорида, аммиака, фенола, цианидов в промышленных выбросах [44]. В то время как применение

метода *Bioreg* при микробиологической очистке почвы от нефтяных загрязнений *in situ* привело к десятикратному уменьшению концентрации углеводов [45].

При внесении биопрепаратов на основе клеток микроорганизмов, в почву с аэрированными на специальной установке грунтовыми водами по методу *Biox-S* наблюдали снижение содержания бензола в грунте на три порядка [46].

Показано, что активизация естественных биодеграционных процессов с помощью препарата *Unipol* позволила очистить за три недели более 50 миль побережья Аляски, залитой нефтью [47].

Препарат на основе анаэробных бактерий, помещённых в специальные кессоны, был использован для очистки донных отложений реки Гудзон, загрязнённых полихлорвиниловыми дифенилами. В ряде случаев были применены нитратсодержащие системы, в которых биодегградация осуществлялась за счёт переключения аэробного метаболизма бактерий на денитрификацию, для очистки грунтовых вод, загрязнённых топливом реактивных самолётов [48, 49].

Были открыты штаммы бактерий рода *Alkaligenes*, которые эффективно разрушали гидразины в почве и воде и штаммы микроорганизмов рода *Pseudomonas*, способные утилизировать алкилсульфонаты [50]. Такие штаммы в качестве единственного источника углерода и энергии используют расщепление связи C-S с последующим окислением алифатического спирта до соответствующих кислот. Указанные штаммы нашли своё применение для очистки сточных вод, загрязнённых анионами поверхностно активных веществ [51, 52].

Установлено, что штаммы *Ps. paucimobilis* разлагают ряд ароматических углеводов, считающихся ранее устойчивыми к биодегградации – антрахинона, флуорена, хризена, фенантрена, пирена и др. [53].

В глубоких меловых отложениях обнаружены грамположительные бактерии, использующие в качестве единственного источника углерода и энергии толуол, нафталин, дибензотиофен, салицилаты, бензол, п-крезол и все изомеры ксилола [54].

Во всём мире микробиологическое разложение рассматривается как наиболее перспективный путь освобождения окружающей среды от таких устойчивых соединений, как хлорированные углеводороды, образующиеся при уничтожении отходов методом сжигания [55]. Так, в работе [56] показано, что бактерии *Ps. ceracia AC1100* размножаются в среде, содер-

жащей 2,4,5-трихлорфеноксиуксусную кислоту, и эффективно очищают почвы при начальной концентрации этого гербицида 20 мг/г почвы.

Имеются данные об эффективном разложении бактериями смеси полихлорированных дифенилов до 90% в течение 1–20 суток.

Известны факты, когда внесение в почву суспензии бактерий *Ps. putida LB 400* привело к значительному снижению содержания в ней пиралена – полихлорированного дифенила, используемого в качестве изолятора в трансформаторах и образующего при сжигании более токсичные соединения по сравнению с диоксином, фураном и их производными [57].

В исследовательском центре ВВС США получен штамм бактерий, одновременно расщепляющий хлорбензол и толуол, что раньше считалось неосуществимым [58].

По завершении процесса деструкции экотоксикантов содержание внесённых в почву бактерий резко снижается.

Большие успехи в биотехнологии связывают с результатами внедрения генно-инженерных разработок в практику, несмотря на ограничения применения рекомбинантных микроорганизмов в полевых испытаниях во многих странах. Исследователи считают, что генетически изменённые бактерии могут быть эффективно использованы в биотехнологиях для деградации опасных веществ в биореакторах. Имеются публикации [59–61], в которых изучались процессы биоразложения фосфорорганических соединений иммобилизованными культурами клеток бактерий и ферментными препаратами применительно к очистке сточных вод в производстве пестицидов, при их фасовке, обезвреживании тары и др.

В работе [62] приведены примеры успешного использования суспензионных и лиофилизированных культур микроорганизмов для деконтаминации почвы и воды, загрязнённых фосфорорганическими соединениями. Внесение микроорганизмов проводили на глубину до 40 см. Период разрушения фосфорорганических соединений варьировал от нескольких дней (для тиофоса) до нескольких недель (для фентиона, фитазола и этилгузатиона). Авторами показано, что биохимические процессы разрушения пестицидов в почве включают деалкиляцию, дегалогенизацию, гидролиз амидов или эфиров, окисление, разрыв кольца и т. д. Установлено, что пестициды, начальной стадией разрушения которых является гидролиз эфирной связи, относительно недолго сохраняются в почве. Гидролиз фосфорорганических соединений (ФОС), протекающий

в живых клетках микроорганизмов, осуществляется под влиянием ферментов гидролаз. Фосфаты легче подвергаются ферментативному гидролизу, чем тиофосфаты. Превращение ФОС с помощью трансфераз мало изучено.

Установлено, что биологическое разрушение пестицидов в природной среде идёт более интенсивно в районах, почвы которых обработаны пестицидами ранее. Это говорит о приспособляемости естественных популяций микробов, находящихся в почве, к потреблению ксенобиотиков [63].

Примером процесса адаптации микроорганизмов к токсичным веществам могут служить результаты исследований возможности биодеструкции агрессивного химического соединения 1,4 дибензоксазепин. Это вещество было добавлено в культуру микроорганизмов, выделенных из осадка пресноводного водоёма. После инкубации в течение 90 дней путём постепенного повышения концентрации токсиканта была достигнута устойчивость к концентрации до 200 мг/л. Через 22 дня данный экотоксикант был разрушен полностью. Этот эксперимент показал возможность биоразрушения ксенобиотика в несколько этапов. Процесс был осуществлён ассоциацией микроорганизмов, в которой ведущая роль организма-деструктора принадлежала виду *Alcaligenes denitrificans*. Указанный вид граммотрицательных бактерий широко распространён в природной среде, культивируется в широком диапазоне условий, обладает многосторонним действием в трансформации ксенобиотиков [64].

Аналогичные методы адаптации микроорганизмов могут быть использованы и для проведения процесса разложения других экотоксикантов представителями иных родов и видов микроорганизмов [65]. В ходе проведения исследований по очистке почв было сделано заключение, что микробиологическое обеззараживание окружающей среды целесообразно проводить суспензией клеток бактерий при малых и средних уровнях загрязнения. В случаях присутствия больших концентраций загрязнителя необходимы специально созданные препараты иммобилизованных – защищённых носителем – клеток бактерий и ферментов. Проведение иммобилизации (закрепления) ферментов и бактериальных клеток позволяет стабилизировать их деятельность и использовать их многократно, расширяя температурный оптимум действия.

В литературе описано использование симбиоза микроорганизмов с водорослями и про-

стейшими беспозвоночными, представляющего собой активный ил. Из экологических соображений особый интерес представляет биомасса, являющаяся отходом промышленной ферментации или встречающаяся в море. Некоторые из этих типов биомасс, обладающих высокой сорбционной ёмкостью, служат основой для новых конкурентно способных процессов биосорбции для детоксикации промышленных отходов, содержащих металлы. Так, ионы свинца и кадмия хорошо связываются биомассой водорослей. Биомассу морских или речных водорослей можно также использовать для удаления из промышленных стоков остаточных количеств токсичных металлов. Мицелии грибов *Rhizopus* и *Absidia* являются лучшими сорбентами меди, свинца, цинка, кадмия, урана и некоторых других тяжёлых металлов [66, 67]. При очистке вод от загрязнений тяжёлыми металлами используют, как правило, два типа биопроцесса: биоадсорбция клеточной массой и биовыщелачивание в результате окислительно-восстановительной реакции [10].

В тех случаях, когда природные микроорганизмы не способны разрушать очень устойчивые химические соединения, или же штаммы-деструкторы не образуют достаточную по численности популяцию, могут быть использованы микроорганизмы, выделенные в лабораторных условиях.

Известно, что микробные инокуляты широкого спектра метаболической активности сейчас производятся зарубежными фирмами и продаются. Наиболее известными фирмами по производству микробных продуктов (лиофилизированные культуры бактерий, жидкая суспензия – *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Nitrobacter*, *Nitrisomonas*, *Cellulomonas*, *Acrobacter*, *Rhodopseudomonas*, смесь мутантных бактерий с азотными, фосфорными удобрениями и эмульгатором, мутантные бактерии в смеси с питательными веществами и стимуляторами роста), являются *Flow Laboratories* (Ingelwood, CA), *General Environmental Science* (Beachwood, OH), *Sybron Biocemical* (Dirmingham, NJ, Salem, VA). Способ применения таких препаратов и эффективность их действия зависит от степени соответствия почвенных и климатических условий потребностям микроорганизмов.

Многие специалисты считают, что реинтродукция микроорганизмов будет успешной только в том случае, если эти микроорганизмы будут выделены из конкретной экосистемы. Поэтому процесс получения штаммов деструкторов, адаптированных к местным условиям, является составной частью технологии обработки почв.

До настоящего времени ещё никем не доказано, что внесённые в загрязнённую почву микроорганизмы могут оказывать отрицательное воздействие на природную микрофлору. Имеются лишь сведения, что после внесения микроорганизмов *in situ* наблюдается временное изменение баланса и состава микрофлоры, сложившейся в местах, загрязнённых экотоксикантами к моменту осуществления биохимической деградации.

При изучении генетической структуры популяции бактерий после ликвидации последствий разлива нефти на побережье Аляски была установлена чёткая закономерность – частота встречаемости генов деструкции субстрата зависит от количественного его содержания в окружающей среде [68].

Использование генетически изменённых микроорганизмов (ГИМ), полученных в лабораториях, в окружающей среде поднимает проблему экологической безопасности. Последствия использования в окружающей среде ГИМ были оценены в ходе комбинированных полевых и лабораторных испытаний, которые показали, что лабораторные штаммы и полученные на их основе ГИМ могут выживать длительное время в природных условиях и, следовательно, могут оказывать воздействие на экосистемы [69]. Предсказать воздействие ГИМ невозможно. Необходимо проведение предварительных прогностических оценок возможных последствий биовосстановления с использованием ГИМ по специальным показателям.

Установлено, что потенциальными микробными биокатализаторами разложения фосфорорганических соединений (ФОС) могут быть бактерии родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas*, широко распространённые в различных почвах. Бактерии рода *Pseudomonas* известны своей деструктирующей способностью по отношению к различным ксенобиотикам, в том числе пестицидам, а бактерии рода *Rhodococcus* известны как деструкторы углеводородов нефти и продуктов разложения ФОС. Большинство клеток, осуществляющих разложение ФОС, используются в высоких концентрациях (106 кл/г почвы). Это позволяет не только увеличить начальную скорость деградации ФОС, но и стабилизировать микроорганизмы в неблагоприятных условиях за счёт их перехода в устойчивое состояние «кворума» (Quorum sensing). Состояние «кворума» связано с генетическим ответом клеток бактерий на увеличение их концентрации и, как правило, выражается в изменении биохимического со-

става клеток и формировании повышенной устойчивости микроорганизмов к различным внешним неблагоприятным факторам. Суть этого явления для грамотрицательных бактерий состоит в том, что в процессе роста и накопления биомассы они синтезируют N-ацилгомосеринлактоны, которые являются автоиндукторами экспрессии «молчащих» генов, отвечающих за формирование резистентности у данных бактерий [70]. Использование иммобилизованных клеток бактерий в состоянии «кворума» может обеспечить наиболее эффективную очистку почв, загрязнённых ФОС. В литературе имеются также данные о технологиях получения иммобилизованных микробных консорциумов (ИМК) [71]. Процедура приготовления ИМК состоит в смешивании осадка влажной биомассы выращенных клеток с 10%-ным водным раствором поливинилового спирта (ПВС, ~84 кДа) и последующем суспендировании до получения однородной гомогенной 10–30% (по массе) суспензии клеток.

Для определения деградирующей способности консорциумов ИМК вводились в среду, содержащую параоксон. Общая концентрация иммобилизованных клеток в отдельном эксперименте составляла 20 г клеток/л [72]. Авторами показано, что клетки способны разрушать различные фосфорорганические пестициды, причём варьирование состава консорциума приводило к изменению степени деградации параоксона. Очевидно, клетки бактерий родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas*, находясь в единой ассоциации, оказывают взаимовыгодное влияние друг на друга, в результате чего степень деградации параоксона увеличивалась при их совместном использовании в составе консорциума.

При иммобилизации этих клеток бактерий в одну гранулу криогеля ПВС можно получить увеличение скорости деградации параоксона на 30%. Установлено, что изменение соотношения клеток внутри носителя влияло на скорость деградации (наблюдалось увеличение на 67% по сравнению с начальной величиной) той же концентрации параоксона. При увеличении биомассы иммобилизованных клеток с 10% до 30% (масс.) скорость деградации параоксона не изменялась, но увеличивалась стабильность ИМК, которые могли быть использованы многократно. Такие катализаторы осуществляли высокоэффективную деградацию различных фосфорорганических пестицидов. Через сутки степень деградации большинства пестицидов достигала более 90%.

ИМК могут быть также использованы для решения комплексной задачи – одновременной деградации нескольких загрязнителей в водной системе, например, параоксона, гексадекана и ПНФ.

При использовании клеток-деструкторов или их консорциумов для очистки почв от загрязнителей необходимо учитывать как степень их загрязнения, так и состав загрязнителей. Кроме того, необходимо определить тип почв, которые будут подвергнуты биотехнологической обработке в процессе биоремедиации. В почвах должна быть определена влажность и процент содержания гумуса, а также рН. Эти характеристики могут существенно повлиять на выбор клеток-деструкторов и состав консорциумов.

Во многих микробиологических лабораториях мира наряду с поиском новых микроорганизмов, адаптированных к развитию в присутствии чужеродных токсичных веществ проводятся активные исследования по выделению из бактериальных клеток ферментов, способных катализировать процессы разрушения химических связей в токсичных соединениях – загрязнителях окружающей среды.

Российскими учёными разработан способ ферментативного гидролиза фосфорорганических соединений в почве [73, 74]. На основе модифицированного фермента органофосфатгидролазы, нанесённого на разные носители (пшеничная солома, рисовая солома, дубовые опилки, берёзовые опилки, сосновые опилки, еловые опилки, активный уголь, песок, диатомовая земля), были созданы препараты биокатализаторов, которые успешно были апробированы для очистки разных видов почв, загрязнённых пестицидами (параоксон, диазинон, паратион).

Заключение

Проведённый анализ литературных данных показал, что для очистки почв и вод, загрязнённых экотоксикантами, могут быть использованы ферменты, отдельные штаммы микроорганизмов-деструкторов и различные их консорциумы, как в иммобилизованном виде, так и их суспензии.

Механизмы и схемы проведения биологической деградации экотоксикантов и продуктов их деструкции в водных растворах и почвах различны для разных штаммов микроорганизмов-деструкторов, их консорциумов и ферментов. Поэтому при разработке биотехнологий по очистке почв и вод от загрязне-

ний экотоксикантами необходимо учитывать активность фермента, видовое происхождение используемого в технологии микроорганизма или состав консорциума, их биodeградирующие свойства, особенности поведения в сообществе с различными природными штаммами, способность к изменчивости в условиях неоднородности субстрата, а также характеристики почв и факторы, влияющие на механизм и скорость биodeградации.

Литература

1. Конвенция о запрещении разработки, производства и накопления запасов бактериологического (биологического) и токсинного оружия и об их уничтожении. Париж. 1993.
2. Федеральный закон от 5 июля 1996 г. № 86-ФЗ О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности. М.: 1996. (в ред. Федерального закона Российской Федерации от 4 октября 2010. № 262-ФЗ).
3. Холстов В.И., Тарасевич Ю.В., Григорьев С.Г. Пути решения проблемы безопасности, уничтожения опасных веществ за рубежом // РХЖ. 1995. Т. 39. № 4. С. 65–73.
4. Удальцова Г.Ю., Холстов В.И., Григорьев С.Г. Пути решения проблемы обеспечения безопасности уничтожения опасных веществ за рубежом // РХЖ. 1993. Т. 37. № 3. С. 43–49.
5. Петров С.В., Корякин Ю.Н., Холстов В.И., Завьялова Н.В. Биотехнология в решении проблемы уничтожения химического оружия // РХЖ. 1995. Т. 39. № 4. С. 18–20.
6. Варфоломеев С.Д., Курочкин И.Н., Райнина Е.И. и др. Новый технологический подход к уничтожению химического оружия. Полная биологическая деградация химических боеприпасов // РХЖ. 1995. Т. 39. № 4. С. 20–24.
7. Харечко А.Т., Мягких В.И., Остроумов Ю.И. и др. Применение микроорганизмов для деструкции опасных веществ, загрязняющих окружающую среду // РХЖ. 1993. Т. 37. № 3. С. 40–43.
8. Боронин А.М., Сахаровский В.Т., Старовойтов И.И. и др. Научные основы комплексной экологически безопасной технологии уничтожения иприта // Прикладная биохимическая микробиология. 1996. Т. 32. № 1. С. 61–68.
9. Биodeградация органических веществ // Информационный сборник № 35 (1551)–16. М.: В/ч 64518, 1992.
10. Разработка биологических способов деструкции ксенобиотоксов и удаления тяжелых металлов // Информационный сборник № 69 (1811)–16. М.: В/ч 64518, 1995.
11. Varfolomeev S.D., Kurochkin I.N., Skliar V.I. et al. // Biocatalytic degradation of chemical warfare related materials. Edgewood, USA, 1995. P. 16.

12. Rainina E., Varfolomeev S.D., and Wild J.R. // Biocatalytic degradation of chemical warfare related materials. Edgewood, USA, 1995. P. 9.
13. Разработка биологических способов деструкции ксенобиотиков // Информационный сборник № 29 (1842)–16. М.: НИИ «Медстатистика», 1996. Инв. № 940-96. В/ч 64518.
14. Харечко А.Т., Мягих В.И., Корякин Ю.Н. и др. Оценка влияния микроорганизмов на динамику разложения зомана в почве // РХЖ. 1995. Т. 39. № 4. С. 104–107.
15. Кошелев В.М., Жданов В.А., Шувалов А.А. и др. Американские разработки методов уничтожения химического оружия // РХЖ. 1995. Т. 39. № 4. С. 31–36.
16. Funk S.B., Roberts D.J., Crawford D.J. et al. Initial phase optimization for bioremediation of munition compound-contaminated soils // Appl. Env. Microb. 1992. V. 59. № 7. P. 2171–2177.
17. Kaake R.H., Roberts D.J., Stevens T.O. et al. Bioremediation of soils contaminated with the herbicide 2-sec-butyl-4, 6-dinitrophenol // Appl. Env. Microb. 1990. V. 56. № 6. P. 1666–1671.
18. Howard J., Fox S. Review of current research projects and innovations in remediation // Gen. Eng. News. 1994. V. 14. № 17. P. 8–9.
19. Tursman J.F., Cork D.J. Subsurface contaminant bioremediation engineering // Crit. Rev. Env. Contr. 1992. V. 22. № 5. P. 1–26.
20. Biodegradation of chemical warfare agents: demilitarization applications. Edgewood, USA, 1993.
21. Biocatalytic degradation of chemical warfare related materials. Edgewood, USA, 1995.
22. De Frank J.J., Cheng Tu-Chen, Rolakowsky G.E., Harvey S. Advances in the biodegradation of chemical warfare agents and related materials // Abstr. Keystone symp. Environ. Biotechnol., Lake Tahoe, Calif., March 16–22, 1995.
23. Tu-Chen Cheng, Harvey S.P., Chen G.L. Cloning and expression of a gene encoding a bacterial enzyme for decontamination of organophosphorous nerve agents and nucleotide sequence of the enzyme // Appl. Env. Mikrob. 1996. V. 62. № 5. P. 1636–1641.
24. Dumas D.P. et al. Inactivation of organophosphorous nerve agents by the phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta* // Arch. Biochem. Biophys. 1990. V. 277. № 1. P. 155–159.
25. Dumas D.P. et al. Purification and properties of the phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta* // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. P. 19655–19659.
26. Landis W.G. et al. Identification and comparison of the organophosphate acid anhydrase activities of the clam // *Rangia cuneata*. Comp. Biochim. Physiol. 1989. V. 94C. № 2. P. 365–371.
27. Harvey S., De Frank J.J., Kamely D. et al. Microbiol degradation of agent orange and mustard related compounds // Biotechnology: bridging research and applications // Eds. Kamely D., Chakrabatry A.M., Komguti S.E. Kluwer Acad. Pub. Dordrecht, 1991. P. 221–230.
28. Патент на изобретение № 2408724 зарегистрирован 10 января 2011 г. Бюл. № 1. Способ биоразложения фосфорорганических соединений в составе реакционных масс, получаемых после химического уничтожения вещества типа Vx.
29. Патент на изобретение № 2360967 зарегистрирован 10 июля 2009 г. Бюл. № 19. Биокатализатор на основе иммобилизованных клеток бактерий для разложения метилфосфоновой кислоты и её эфиров.
30. Ефременко Е.Н., Завьялова Н.В., Холстов В.И. и др. Иммобилизованные биокатализаторы на основе органофосфатгидролазы в процессах разложения фосфорорганических отравляющих веществ // Теоретическая и прикладная экология. 2011. № 4. С. 26–31.
31. Ефременко Е.Н., Сироткина М.С., Завьялова Н.В., Холстов В.И. и др. Иммобилизованные гетерогенные биокатализаторы для разложения фосфорорганических отравляющих веществ // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2011. № 1. С. 61–66.
32. Dechets dangereux: programme de traitement par biodegradation // Bio la letter des biotechnologies. 1989. V. 196. P. 67.
33. Бекер С., Дерре Р., Штельд Е. Безопасное уничтожение высокоокисичных веществ // РХЖ. 1993. Том 37. № 3. С. 29–33.
34. Mudrack K., Sahn H., Sitting W. Environmental biotechnology // Fundamentals of biotechnology. Ed. P. Prave et al. Weinheim, V.C. Verlag GmbH., 1987. P. 633–660.
35. Sterritt R.M., Lester J.N. Microbiology for environmental and public health engineer // London, New York E. & F.N. Spon., 1988.
36. Esposito M.P., McArdle J.L., Crone A.H., et al. Decontamination techniques for buildings, structure and equipment // Park Ridge etc. Noyes Data Corporation U.S.A, 1987.
37. Уткин И.Б., Якимов М.М., Козляк Е.И., Рогожин И.С. Деструкция токсичных соединений микроорганизмами // Итоги науки и техники. Серия: Биологическая химия. М.: ВИНТИ, 1990. Т. 43.
38. Яковлев В.И. Технология микробиологического синтеза. Л.: Химия, 1987.
39. Hilaire D., Morineaus V., Garrigue H., Block J.C. Biological Decontamination of Nerve Agent VX // Proceedings from the 6th CBN Protection Symposium. Stockholm, Sweden, May 10–15, 1998.
40. Завьялова Н.В., Кротович И.Н., Мягих В.И., Холстов В.И., Ялышев М.Р. Биотехнологические методы уничтожения химического оружия и устранения загрязнения окружающей среды // Федеральные и региональные проблемы уничтожения химического оружия. Выпуск 2. М.: ВИНТИ, 2000. С. 41–47.

41. Ефременко Е.Н., Завьялова Н.В., Гудков Д.А., Лягин И.В., Сенько О.В. и др. Экологически безопасная биodeградация реакционных масс, образующихся при уничтожении фосфорорганических отравляющих веществ // *РХЖ*. 2010. № 4. С. 19–24.
42. Ефременко Е.Н., Лягин И.В., Завьялов В.В., Варфоломеев С.Д., Завьялова Н.В., Холстов В.И. Ферменты и технологии уничтожения фосфорорганических отравляющих веществ // *РХЖ*. 2007. № 2. С. 24–29.
43. Karna J.S., Kilbane J.J., Chatterjee D.K. et al. // *Basic Life Sci.* 1984. V. 28. № 1. P. 3–21.
44. Success in pollution protection // *Biol. Technol.* 1991. V. 9. № 12. P. 1316–1318.
45. Martinetz G. // *Chem. – Techn.* 1989. B. 41. № 8. S P. 342–344.
46. Martinetz G. // *Chem. – Techn. (BRD)*. 1989. B. 18. № 7. S P. 12.
47. Pritchard P.H., Costa C.F. EPAS Alaska oil-spill bioremediation project // *Environ. Sci. Technol.* 1991. V. 25. № 3. P. 372–379.
49. Hutchins S.R. Biodegradation of monoaromatic hydrocarbons by aquifer microorganisms using oxygen, nitrate, or nitrous-oxide as the thermal electron-acceptor // *Appl. Environ. Microbiol.* 1991. V. 57. № 8. P. 2403–2407.
50. Hutchins S.R., Sewell G.W., Kovacs D.A., Smith G.A. Biodegradation of aromatic-hydrocarbons by aquifer microorganisms under denitrifying conditions // *Environ. Sci. Technol.* 1991. V. 25. № 1. P. 68–76.
51. Ou L.T., Street J.J. Microbial enhancement of hydrazine degradation in soil and water // *J. Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1987. V. 39. № 3. P. 544–548.
52. Oltmanns R.H., Muller R., Otto M.K., Lingens F. Evidence for a new pathway in the bacterial-degradation of 4-fluorobenzoate // *Appl. Environ. Microbiol.* 1989. V. 55. № 10. P. 2499–2504.
53. Ставская С.С., Таранова Л.А., Григорьева Т.Ю. Разрушение алкилсульфоната *Pseudomonas rathonis* // *Микробиология*. 1984. Т. 53. № 2. С. 218–222.
54. Mueller J.G., Chapman P.J., Blattmann B.O., Pritchard P.H. Isolation and characterization of a fluoranthene-utilizing strain of *Pseudomonas-raucimobilis* // *Appl. And Environ. Microbiol.* 1990. V. 56. № 4. P. 1079–1086.
55. Fredrickson J.K., Brockman F.J., Workman D.J., Li S.W., Stevens T.O. Isolation and characterization of a subsurface bacterium capable of growth on toluene, naphthalene, and other aromatic compounds // *Appl Environ Microbiol.* 1991. V. 57(3). P. 796–803.
56. O'Reilly K.T., Crawford R.L. Kinetics of p-cresol degradation by an immobilized *Pseudomonas sp* // *Appl Environ Microbiol.* 1989. V. 55. № 4. P. 866–870.
57. Kilpi S., Himberg K., Yrjala K., Backstrom V. The degradation of biphenyl and chlorobiphenyls by mixed bacterial cultures // *FEMS Microbiol. Ecol.* 1988. V. 53. № 1. P. 19–26.
58. Denis Lempereur // *J. Sci. et vie.* 1987. № 842. P. 94–95.
59. Pettigrew C.A., Haigler B.E., Spain J.C. Simultaneous biodegradation of chlorobenzene and toluene by a *Pseudomonas* strain // *Appl Environ. Microbiol.* 1991. V. 57. № 1. P. 157–162.
61. Munnecke D.M. Enzymatic hydrolysis of organophosphate insecticides, a possible pesticide disposal method // *Appl. Environ. Microbiol.* 1976. V. 32. № 1. P. 7–13.
62. Munnecke D.M. Detoxification of pesticides using soluble or immobilized enzymes // *Process Biochem.* 1978. V. 13. № 1. P. 16–19.
63. Munnecke D.M. Properties of an immobilized pesticide-hydrolyzing enzyme // *Appl. and Environ. Microbiol.* 1977. V. 33. № 3. P. 503–507.
64. Baumgarten J., Blass W., Frommer W. et al. // *Abschluss – bericht, BMFT – FB.* 1982. V. 82. P. 191.
65. Fischer H.F., Munnecke D.M. Bundesforschungsanstalt fuer Landwirtschaft, Brunswick: Institut fuer Bodenbiologie, BMFT-FB–T. 70-046.
66. Mac Rae J.C. Microbial metabolism of pesticides and structurally related compounds // *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 1989. V. 109. P. 1–87.
67. Kerster K., Delay J. Genus *Alcaligenes* Castellali and Chalmers 1919, 936 // *J.N: Bergey s Manual of Systemati Bacteriology*, Kreig, N.E., Holt. J.G., Eds., Publ.: Williams, Wilkins, Baltimore, 1984. Md. V. 1. P. 361–373.
68. Fedorak P.M., Westlake D.W.S. Selective degradation of biphenyl and methylbiphenyls in crude-oil by 2 strains of marine-bacteria // *Can. J. Microbiol.* 1983. V. 29. № 5. P. 497–503.
69. Krumme M.L., Smith R.L., Egestorff J. et al. Behavior of pollutant – degrading microorganisms in aquifers: predictions for genetically engineered organisms // *Env. Sci. Technol.* 1994. V. 28. № 6. P. 1134–1138.
70. Lauscy A., Holan Z.R., Volesky B. Biosorption of heavy metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) by chemically – reinforced biomass of marine algae // *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 1995. V. 62. № 3. P. 279–282.
71. Sotsky J.B., Green C.W., Atlas R.M. Frequency of genes in aromatic and aliphatic hydrocarbons biodegradation pathways within bacterial populations from Alaskan sediments // *Can. J. Microb.* 1994. V. 40. № 11. P. 981–985.
72. Krumme M.L., Smith R.L., Egestorff J. et al. Behavior of pollutant – degrading microorganisms in aquifers: predictions for genetically engineered organisms // *Env. Sci. Technol.* 1994. V. 28. № 6. P. 1134–1138.
73. Sirotkina M., Lyagin I., Efremenko E. Hydrolysis of organophosphorus pesticides in soil: New Opportunities with ecomhatible immobilized His6–OPH // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2012. № 68. P. 18–23.
74. Патент РФ на изобретение № 2451077 от 20 мая 2012. Бюл. № 14. Способ ферментативного гидролиза фосфорорганических соединений в почвогрунте.

УДК 577.15+623.459

Основные технологические операции и стадии биоремедиации почв и очистки вод *in situ*

© 2014. Н. В. Завьялова¹, д.б.н., г.н.с., И. В. Филимонов¹, к.т.н., с.н.с.,
В. А. Ковтун¹, к.х.н., зам. командира, А. Н. Голипад¹, к.т.н., начальник управления,
С. В. Петров¹, д.т.н., г.н.с., К. К. Стяжкин¹, д.б.н., начальник, Е. Н. Ефременко², д.б.н.,
зав. лабораторией, В. И. Холстов³, д.х.н., директор, А. А. Янковская⁴, офицер отдела,

¹27 Научный центр Минобороны России,

²Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,

³Департамент реализации конвенционных обязательств

Министерства промышленности и торговли Российской Федерации,

⁴Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического оружия,

e-mail: natzavjalova@rambler.ru

В статье приведены разработанные технологические операции и стадии биотехнологических способов проведения ремедиации почв и очистки вод с помощью экобиопрепаратов на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов. Представлена структурная схема и изложен порядок действий при проведении санации территорий *in situ* на ОХУХО.

Технологические операции, стадии, структурная схема и порядок действий при проведении биоремедиации почв и очистки вод *in situ* имеют универсальный характер, могут быть применены для обезвреживания любых продуктов детоксикации ФОВ, полученных при различных технологиях химической нейтрализации и свидетельствуют о возможности осуществления, на основе биокаталитических и микробиологических процессов, экологически безопасной биоремедиации почв и очистки вод и проведения обезвреживания значительных объёмов и концентраций загрязнителей, а также больших территорий.

The work presents the main technological operations and stages of biotechnological methods of remediation of soils and water purification using ecological and biological preparations based on enzymes and microorganisms- destructors. Is a block diagram, and set out the procedures for carrying former chemical weapons storage and destruction facilities.

The technological operations, stages, blocks of diagrams and stages of operations during realization *in situ* have a universal character. They can be used in neutralizing of any organophosphorus agents, talon from different chemical technologies and are evidence of possibility of realization, on the base of biocatalysts and micro-biological processes, bioremediation ecology security of soils and water purification and realization of neutralizing of considerable volumes and concentrate of agents, and large territories.

Ключевые слова: микроорганизмы-деструкторы, биокатализатор, биоремедиация почв и очистка вод, детоксикация фосфорорганических отравляющих веществ, фермент, экотоксиканты.

Keywords: microorganisms-destructors, biocatalysts, bioremediation of soils and water purification, detoxication organophosphorous agents, enzyme, toxic substances.

Федеральной целевой программой «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации» предусмотрено соблюдение санитарных норм и правил, санитарно-гигиенических нормативов и стандартов безопасности, регламентирующих работы по хранению и уничтожению ХО, конверсии или уничтожению объектов по его производству или разработку, а также работы по ликвидации последствий деятельности ОХУХО, включая разработку технологий санации загрязнённых территорий и осуществление этих работ

в сроки, установленные Правительством Российской Федерации [1].

Санитарные правила СП 2.2.1.2513-09 предусматривают проведение санации территорий ОХУХО при выводе их из эксплуатации, но не определяют технологий очистки [2]. Поэтому на этапе завершения процесса уничтожения ХО важной задачей является выбор наиболее перспективных направлений и разработка конкретных технологий санации.

Необходимость разработки таких технологий связана с тем, что сверхнормативное

загрязнение природной среды вероятно не только в случае аварий, но и при работе ОХУХО в штатном режиме.

При работе ОХУХО в штатном режиме возможно рассеивание и распространение продуктов детоксикации ОВ. Загрязнения территорий могут быть незначительны по количественному показателю, однако площадь таких территорий может превосходить размеры самой промышленной площадки Объекта. Так на примере ОХУХО в п. Горный [3] показано, что фито- и генотоксичность проб почвы на территории санитарно-защитной зоны (СЗЗ) и зоны защитных мероприятий (ЗЗМ) отличается. Всхожесть семян растений (одуванчик лекарственный – *Taraxacum officinale* Wigg. l) из района объекта оказалась в 1,5–2 раза ниже, а уровень хромосомных aberrаций выше, чем у семян растений из экологически чистых зон (Саратовский р-н, с. Багаевка), причём, чем выше был уровень загрязнения, тем ниже была всхожесть.

Это может быть следствием длительного срока хранения ХО на этом объекте (с 40-х годов). При этом требования по экологии были значительно ниже, чем в настоящее время. Известно, что такие загрязнения могут быть причиной также отдалённых последствий таких, как: торможение хода почвообразовательных процессов и самоочищения почв; снижение урожайности; накопление вредных веществ в окружающей среде, в водных бассейнах, в растениях. Указанные последствия прямо или опосредованно могут оказывать влияние на организм человека.

Разнообразие природных условий, в которых расположены ОХУХО, характер и степень фоновой и специфического загрязнения компонентов природной среды исключают возможность использования какой-то одной технологии и одного препарата детоксикации специфических загрязнений. В связи с этим при разработке мероприятий по очистке загрязнённых территорий необходимо учитывать результаты наблюдений, оценки и прогноза, оформленные в виде карт рассеивания и распространения контролируемых соединений в компонентах природной среды (почве, воде, воздухе) с указанием уровней загрязнения [4].

Для санации загрязнённых территорий могут быть использованы физические, химические, физико-химические и биотехнологические методы или их комбинации.

В зависимости от масштаба и степени загрязнения территорий возможны два основных подхода: снятие верхнего слоя почвы для обра-

ботки на специальных установках (реакторах) и деструкция вредных веществ непосредственно на месте – *in situ*.

Биотехнологические методы предусматривают использование бактерий и продуцируемых ими ферментов, активного ила, фиторемедиацию, грибковые технологии и др.

Согласно оценкам экспертов [5] биотехнологии очистки почв и вод значительно экономичнее традиционных физико-химических способов. Применение биокатализаторов на основе клеток-деструкторов примерно в 50 раз дешевле принятых химических или физических методов. Использование биотехнологий позволяет решить проблему вторичных загрязнений, так как разрушение ксенобиотиков можно провести без накопления вредных или токсичных вторичных продуктов. Кроме того, благодаря использованию ферментов, специальных анаэробных или аэробных штаммов деструкторов или их консорциумов возможно осуществить обезвреживание значительных объёмов и концентраций загрязнителей, а также больших территорий. Бионейтрализация ФОВ и продуктов их детоксикации делает процесс их уничтожения полностью необратимым [6].

Целью биоремедиации почв и очистки вод, загрязнённых ФОВ и продуктами их детоксикации, является полная минерализация загрязнителей с помощью биокатализаторов на основе ферментов, штаммов-деструкторов или их консорциумов. Биоразложение фосфонатов протекает за счёт прямого расщепления P-F, P-O, C-S, P-CN и даже C-P связей [7].

Возможность биодеструкции практически всех ФОВ в малых концентрациях и любых продуктов их детоксикации с помощью микроорганизмов и ферментов, выделенных из тканей беспозвоночных, инфузорий и бактерий, была показана в исследованиях 1980–90 гг. [8].

В настоящее время в мире наиболее целесообразным с экологической точки зрения признаётся очистка почв и вод *in situ*, поскольку не требуется снятия и транспортировки загрязнённых слоёв почвы. Кроме того, не уничтожается гумус, что имеет место при термической обработке, когда потеря его составляет до 60%, и не требуется внесение большого количества реагентов (до 100 л/м³ почвы рецептуры «Макс»), как при химической обработке.

Требуемое для внесения количество биопрепарата составляет 4,0–30,0 мг на квадратный метр или 40,0–300,0 г на гектар [9].

Как наиболее перспективные для получения экибиопрепаратов для очистки загряз-

нённых территорий ОХУХО были отобраны ферменторганофосфатгидролаза (ОФГ, ЕС 3.1.8.1) с гексагистидиновой последовательностью (His₆-ОФГ) на N-конце молекулы белка и штамм микроорганизмов-деструкторов *Pseudomonas specias 78Г* [5, 6, 10]. Немаловажным фактором, обуславливающим указанный выбор, является их безвредность для окружающей среды – отсутствие токсичного и экотоксичного действия – и возможность масштабной наработки препаратов для практического использования [9, 11].

Внешний вид препарата фермента His₆-ОФГ, биокатализатора, созданного на его основе и делигнифицированной пшеничной соломы, а также гранул биокатализатора на основе клеток-деструкторов *Ps. sp 78Г*, иммобилизованных в криогель поливинилового спирта (ПВС) представлены на рисунках 1 и 2.

Основные технологические операции и стадии биотехнологических способов ремедиации почв и очистки вод *in situ* с помощью биокатализаторов на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов

Анализ отечественных и зарубежных литературных источников по биотехнологическим способам санации почв и очистки вод выявил, что стадии и технологические операции ремедиации почв и очистки вод от ФОВ и продуктов их детоксикации *in situ* конкретно не описаны, также отсутствуют предложения по порядку действий при проведении биоремедиации почв и очистки вод на ОХУХО.

Исходя из вышесказанного, нами были предложены стадии биотехнологической ремедиации почв и очистки вод, загрязнённых ФОВ и продуктами их детоксикации, *in situ*. Кроме того, была разработана структурная схема экологически безопасной санации почв и очистки вод в местах бывшего производства, хранения, уничтожения и исследования ФОВ и предложен порядок действий при проведении ремедиации почв и очистки вод с помощью биокатализатора ОХУХО (далее по тексту – Порядок действий).

По нашему мнению, биоремедиацию почв и очистку вод следует проводить *in situ* в три стадии.

На **первой стадии** биоремедиации почв и очистки вод *in situ* при слабом загрязнении необходимо проводить стимуляцию роста природных микроорганизмов-деструкторов путём аэрации и введения питательных ве-

ществ. Благодаря тому, что почва содержит огромное многообразие микроорганизмов, при оптимизации основных параметров их жизнедеятельности достигается быстрая и эффективная трансформация многих веществ органического происхождения, загрязняющих природную среду. Питательные вещества и кислород следует вводить через специальные скважины на глубину до 40 см.

В случаях, когда загрязняющие соединения, попавшие в почву, не являются сильно токсичными, иногда достаточно использования обычных агротехнических приёмов с внесением необходимых минеральных удобрений, чтобы способствовать быстрому самоочищению пахотного слоя.

При среднем загрязнении на первой стадии кроме внесения питательных веществ и кислорода через специальные скважины или непосредственно на поверхность почвы следует вносить биокатализаторы на основе ферментов и штаммов микроорганизмов-деструкторов или их консорциумов в виде суспензий, препараты в лиофилизированном или иммобилизованном состоянии, а также проводить адаптацию этих препаратов к местным условиям. При такой обработке используются биокатализаторы, обладающие деструктивной активностью по отношению к установленным определённым токсичным веществам.

При сильном загрязнении в почву и воду следует вносить биокатализаторы – иммобилизованные ферменты или бактерии-деструкторы, устойчивые к большим концентрациям экотоксикантов, и проводить адаптацию этих препаратов к местным условиям. Кроме того, закачивать питательные вещества и кислород необходимо на протяжении нескольких дней или недель.

Применение ферментных и микробных биокатализаторов в иммобилизованном виде наиболее предпочтительно в случаях средней или сильной степени загрязнения, поскольку иммобилизация фермента и штаммов-деструкторов, направленная на их стабилизацию, позволяет рассчитывать на увеличение длительности пребывания в месте введения в почву или грунтовые воды, что особенно важно в случае применения на практике. Также иммобилизация биокатализаторов обеспечивает возможность их многократного использования в условиях высоких концентраций токсичных субстратов.

На **второй стадии** биоремедиации почв и очистки вод *in situ* определяются: жизнеспособность естественной биоты почвы и воды, а также жизнеспособность и деградирующая

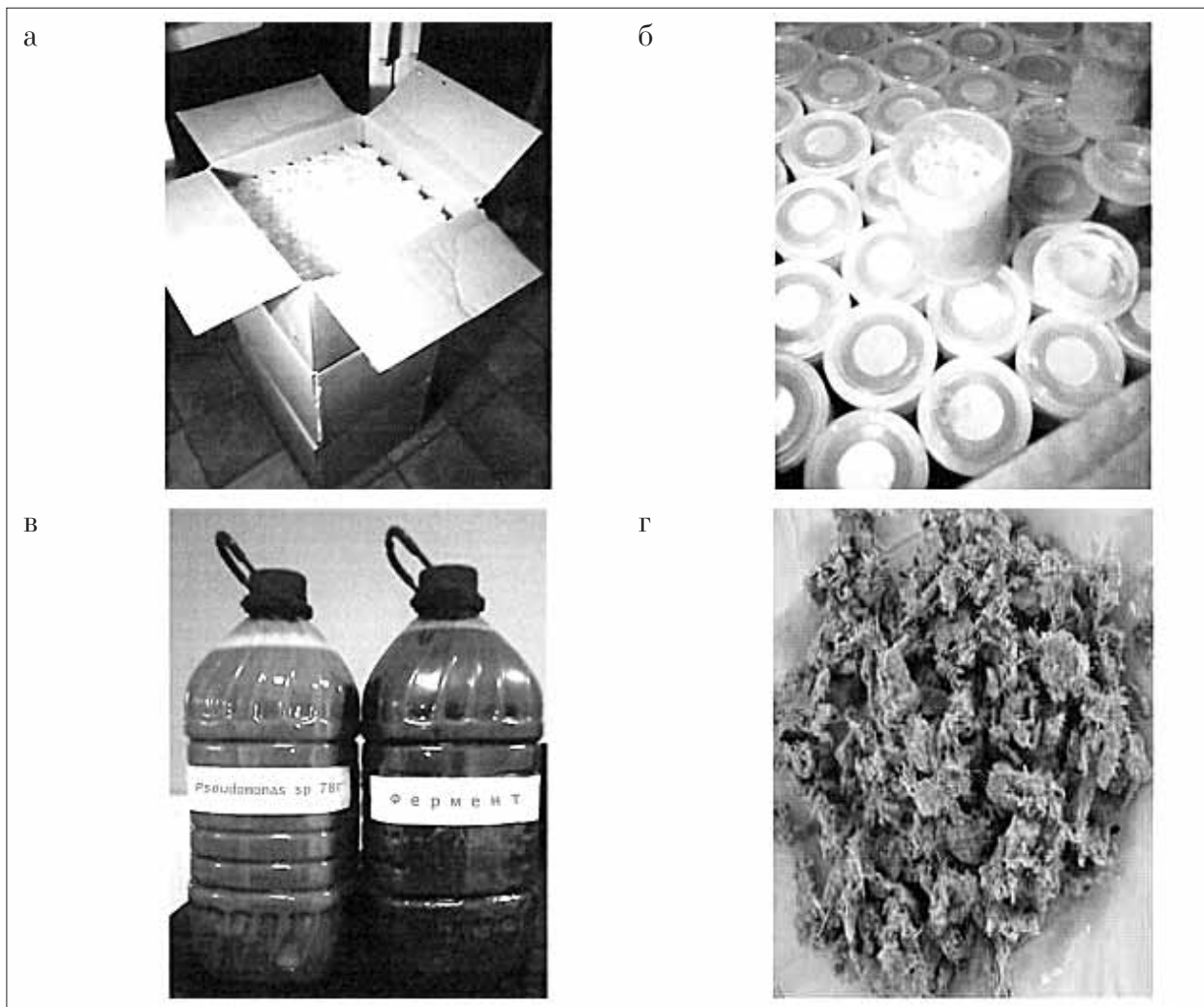


Рис. 1. Препарат фермента His₆-ОФГ:

а, б – полученный для длительного хранения; в – подготовленный для использования в процессе деструкции загрязнителей почв и вод от ФОВ; г – в виде катализатора на основе фермента и делигнифицированной пшеничной соломы.

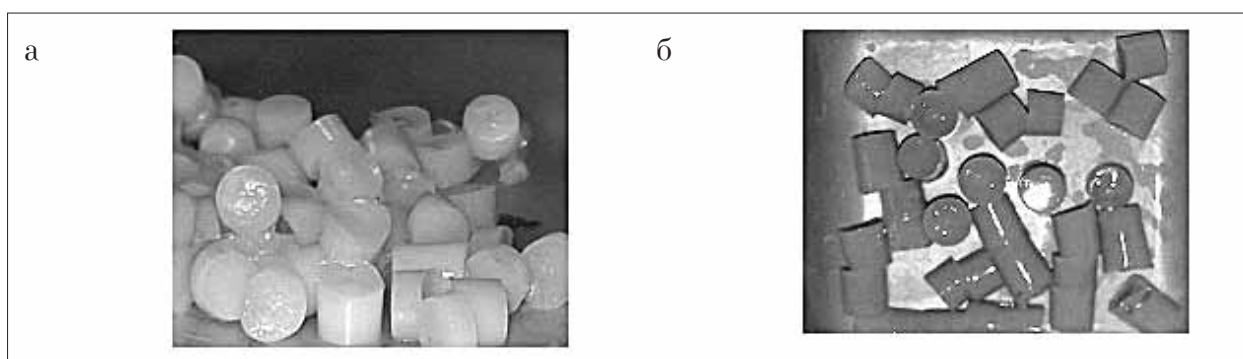


Рис. 2. Гранулы биокатализатора с клетками *Pseudomonas sp78Г*, иммобилизованными в криогель ПВС:

а – первично приготовленные; б – переплавленные из ранее использованных гранул.

активность биокатализаторов; остаточные концентрации загрязнителей и, при необходимости, вносятся дополнительные количества биокатализаторов.

Внесение биопрепаратов в почву следует проводить с аэрированными на специальной

установке грунтовыми водами по методу Biox-S. При сильном загрязнении закачку питательных веществ, кислорода и биокатализаторов можно проводить несколько раз.

На **третьей стадии** обработки почвы *in situ* аналитическими методами определяются пери-

од разрушения загрязнителей, а также степень ремедиации почв и очистки вод. Период очистки может варьировать от нескольких часов и дней до нескольких недель, в зависимости от деградирующей способности использованных биокатализаторов, а также от площадей и степени загрязнённости территории.

Для определения полноты биодеструкции, времени протекания процесса биоремедиации и жизнеспособности микроорганизмов-деструкторов проводится отбор проб через специальные скважины. Пробы анализируются, результаты заносятся в специальные протоколы.

После завершения процесса санации, когда почва и вода полностью очищаются от экотоксикантов или степень загрязнённости достигает ПДК, содержание внесённых в почву микроорганизмов резко снижается.

Во всех случаях очистки почв и вод от загрязнений завершающим моментом является токсикологический тест с использованием живых микроорганизмов [12–15]. Биотестирование позволяет выбрать способы, которые обеспечивают достаточное разложение загрязнителей, и дать гарантированную оценку полноты детоксикации почвы и грунтовых вод. Это особенно актуально при загрязнении почвы и воды продуктами деструкции ОВ.

Структурная схема экологически безопасной ремедиации почв и очистки вод в местах бывшего производства, хранения, уничтожения и исследования фосфорорганических отравляющих веществ

Разработанная структурная схема экологически безопасной ремедиации почв и очистки вод в местах бывшего производства, хранения, уничтожения и исследования фосфорорганических отравляющих веществ представлена на рисунке 3.

После выявления факта химического загрязнения территории необходимо отобрать пробы для установления характера, степени загрязнения почв и вод и определения масштабов загрязнённых территорий (1); составить характеристику местности (2); определить тип почвы, её влажность и рН, а также процент содержания гумуса.

На основании составленной характеристики, используя методы оценки токсического действия продуктов деструкции ОВ на естественные микроорганизмы почвы и воды (3), а также методы оценки токсического действия продуктов деструкции ОВ на биокатализаторы

на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов (4) необходимо подобрать методы внесения и адаптации (5, 6, 9). Осуществить выбор биокатализаторов и отбор микроорганизмов-деструкторов из музея (7, 8).

Используя методы культивирования и наработки биомассы штаммов деструкторов и методы получения биокатализаторов, наработать катализаторы в рассчитанных необходимых количествах (10, 11, 12, 13). Выбирать технологический принцип деградации загрязнителей. Разработать рекомендации по технологическим параметрам. Используя методы количественного определения, установить степень биодеструкции продуктов детоксикации ФОВ (14–16). Провести ремедиацию почв и очистку вод.

В случаях сильного загрязнения, когда возникает необходимость съёма верхних слоёв почвы, необходимо провести расчёт количества ёмкостей, необходимых для перемещения снятой почвы, смеси воды и почвы к биореакторам специальной установки по биодеструкции загрязнителей. Провести перемещение почвы, смеси воды и почвы и осуществить биодеструкцию в реакторах.

Осуществить контроль над процессом ремедиации и очистки (17).

По окончании процесса выдаётся заключение об эффективности ремедиации почв и очистки вод и осуществляется передача очищенной территории в хозяйственное пользование (18).

Порядок действий при проведении биоремедиации почв и очистки вод, загрязнённых ФОВ, и продуктами их детоксикации, *in situ*

На основании разработанной схемы экологически безопасной санации почв и очистки вод в местах бывшего производства, хранения, уничтожения и исследования ФОВ предложен Порядок действий, который представлен на рисунке 4.

Порядок действий включает в себя 5 этапов: на первом этапе – принятия решения о проведении биоремедиации почв и очистки вод – проводится сбор исходных данных о рельефе местности, растительности, типе и особенностях почв, определяется рН, температура грунтовых вод и глубина их залегания, определяется качество и количество экотоксикантов, обнаруженных на загрязнённой территории, проводится бурение скважин, подбираются биокатализаторы, рассчитывается необходимое их количество;

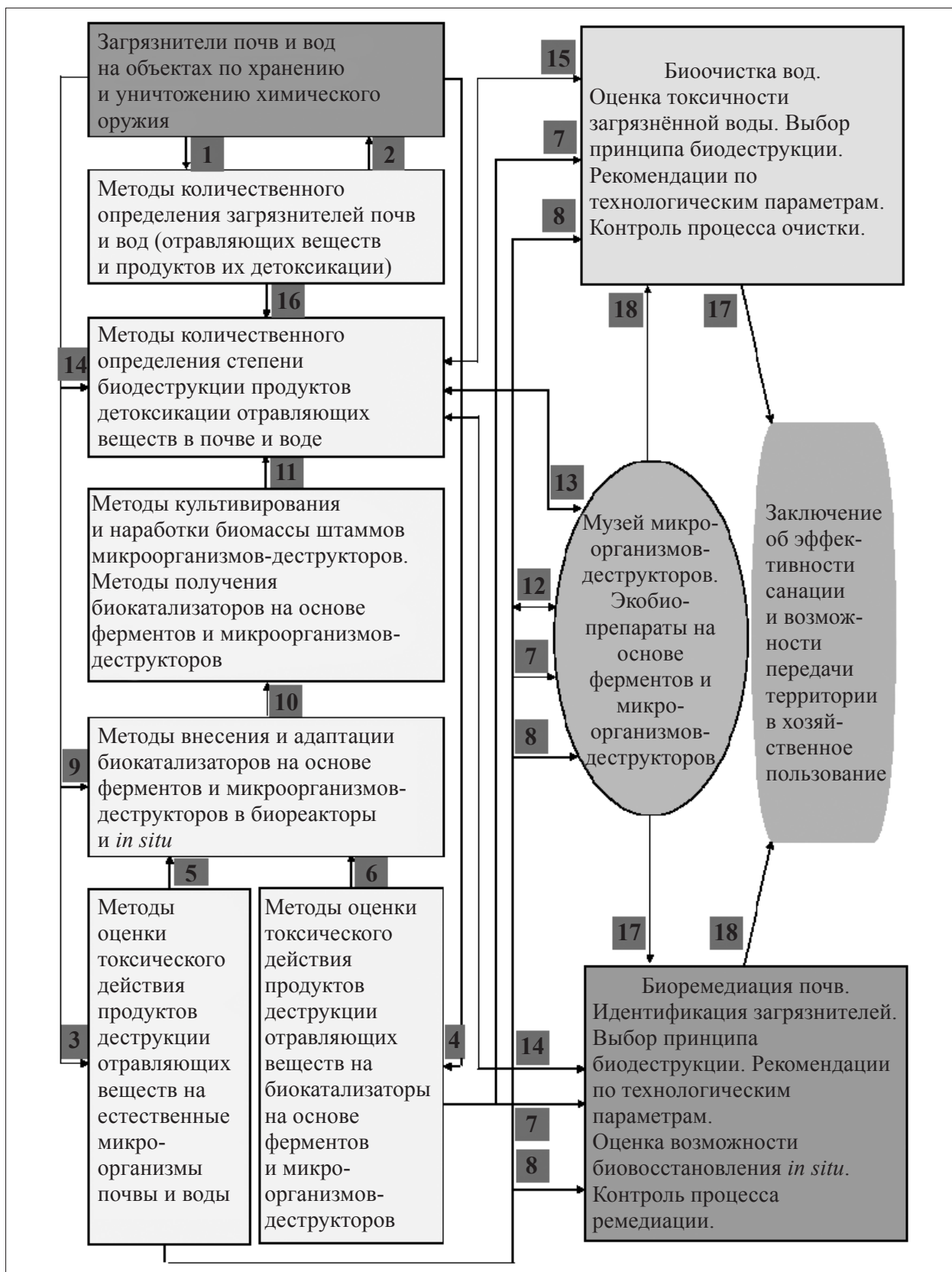


Рис. 3. Структурная схема экологически безопасной ремедиации почв и очистки вод.

на втором этапе – подготовки биокатализаторов – выбираются штаммы-деструкторы и ферменты для получения биокатализаторов,

проводится культивирование и наработка биомассы штаммов микроорганизмов деструкторов, производится необходимое количество

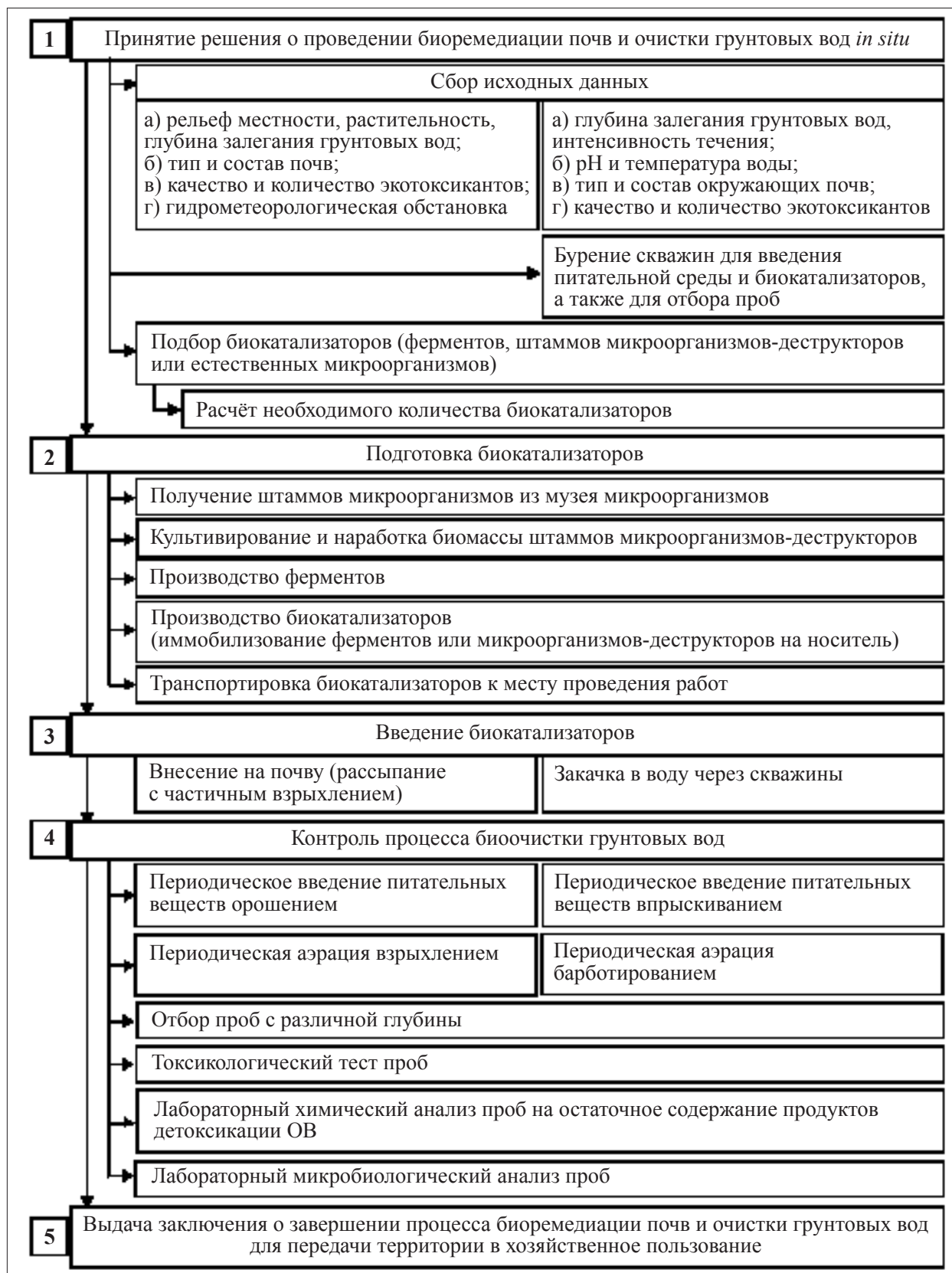


Рис. 4. Порядок действий при биоремедиации почв и грунтовых вод *in situ*.

фермента, производится рассчитанное количество биокатализаторов и проводится транспортировка к месту проведения работ;

на третьем этапе вносятся биокатализаторы на почву или вводятся биокатализаторы в воду через скважины;

на четвёртом этапе осуществляется контроль над процессом биоремедиации почвы и процессом биоочистки грунтовых вод, который включает в себя: периодическое введение питательных веществ; аэрацию взрыхлением или барботированием; отбор проб почвы и воды с различной глубины; токсикологические тесты проб почв и воды; лабораторные химические анализы проб почвы и воды на остаточное содержание продуктов детоксикации отравляющих веществ; лабораторные микробиологические анализы проб почвы и воды;

на пятом этапе составляется заключение об эффективности проведённой ремедиации почв и очистки вод для передачи очищенных территорий в хозяйственное пользование.

Заключение

Представленные в данной работе технологические операции, стадии биотехнологических методов проведения ремедиации почв и очистки вод с помощью экобиопрепаратов на основе ферментов и микроорганизмов-деструкторов, способных разрушать продукты детоксикации ФОВ, разработанная структурная схема экологически безопасной ремедиации почв и очистки вод в местах бывшего производства, хранения, уничтожения и исследования ФОВ, разработанный порядок действий при проведении биоремедиации почв и очистки вод *in situ* имеют универсальный характер, могут быть применены для обезвреживания любых продуктов детоксикации ФОВ, полученных при различных технологиях химической нейтрализации и свидетельствуют о возможности осуществления, на основе биокаталитических и микробиологических процессов, экологически безопасной биоремедиации почв и очистки вод.

Литература

1. Постановление Правительства Российской Федерации от 21.03.1996 г. № 305 об утверждении Федеральной целевой программы «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации» (в ред. Постановлений Правительства РФ от 24.10.2005 № 639, от 21.06.2007 № 392, от 29.12.2007 № 969, от 12.09.2008 № 679, от 09.12.2010 № 1005, от 29.11.2011 № 988, от 27.12.2012 № 1420).

2. Санитарные правила СП 2.2.1.2513-09. Гигиенические требования к размещению, проектированию, строительству, эксплуатации и перепрофилированию объектов по уничтожению химического оружия, реконструкции зданий и сооружений и выводу из эксплуатации объектов по хранению химического оружия.

3. Чупис В.Н., Емельянова Н.В., Полухина Н.В. и др. Генетический мониторинг загрязнения окружающей среды в районах объектов уничтожения химического оружия // Научно-методические и законодательные основы обеспечения генетической безопасности факторов и объектов окружающей и природной среды в целях сохранения здоровья человека: Материалы объединённого пленума Научных советов Минздравсоцразвития России и РАМН по экологии человека и гигиене окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих / Под общ. ред. акад. РАМН Рахманина Ю.А. и Измерова Н.Ф. М.: 2010. С. 170–174. ГОСТ Р 53009-2008. Системы экологического контроля и мониторинга. Общие руководящие указания по созданию, внедрению и обеспечению функционирования на объектах по уничтожению химического оружия.

5. Ефременко Е.Н., Завьялова Н.В., Холстов В.И. и др. Имобилизованные гетерогенные биокатализаторы для разложения фосфорорганических отравляющих веществ // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2011. № 1. С. 61–66.

6. Ефременко Е.Н., Завьялова Н.В., Холстов В.И. и др. Имобилизованные биокатализаторы на основе органофосфатгидролазы в процессах разложения фосфорорганических отравляющих веществ // Теоретическая и прикладная экология. 2011. № 4. С. 26–31.

7. Гудков Д.А.: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. М.: МГУ. 2009. 25 с.

8. Харечко А.Т., Мягких В.И., Завьялова Н.В. и др. Применение микроорганизмов для деструкции опасных веществ, загрязняющих окружающую среду // РХЖ. 1993. Т. XXXVII. № 3. С. 40–43.

9. Сироткина М.С. Имобилизованные биокатализаторы для деструкции фосфорорганических соединений и продуктов их разложения: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. М.: МГУ. 2013. 25 с.

10. Ефременко Е.Н., Варфоломеев С.Д., Завьялова Н.В. и др. Отчёт о НИР, шифр «Богема». М.: МГУ, 2006. 198 с.

11. Бакулин Ю.С., Завьялова Н.В., Харечко А.Т., Холстов В.И. и др. Экспериментальная проверка биодеструкции реакционных масс химической детоксикации ФОВ фосфонат-разлагающими бактериями // Федеральные и региональные проблемы уничтожения химического оружия. М.: ВИНТИ, сборник выпуск № 2. 2000. С. 47–52.

12. ОСТ В-84-2398-88. Биотестирование отраслевых сточных вод. Основные положения.

13. ОСТ В-84-2399-88. Биотестирование отраслевых сточных вод. Методы анализа.

14. Авторское свидетельство 228210 СССР. Способ определения токсичности сточных вод, содержащих компоненты РТ. 1984.

15. Авторское свидетельство 258499 СССР. Определение токсичности веществ по интенсивности потребления растворённого кислорода микроорганизмами. 1985.

УДК 577.15+623.459

Биокатализаторы на основе штаммов микроорганизмов и ферментов, обладающих повышенной способностью к разложению отравляющих веществ и продуктов их деструкции, в процессе очистки почв и вод

© 2014. Н. В. Завьялова¹, д.б.н., г.н.с., И. В. Филимонов¹, к.т.н., с.н.с.,
Е. Н. Ефременко², д.б.н., зав. лабораторией, В. И. Холстов³, д.х.н., директор,
А. А. Янковская⁴, офицер отдела,

¹27 Научный центр Минобороны России,

²Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,

³Департамент реализации конвенциональных обязательств Министерства промышленности и торговли Российской Федерации,

⁴Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического оружия,
e-mail: natzavjalova@rambler.ru

В статье представлен обзор данных литературы за последние тридцать лет по биотехнологическим методам и биокатализаторам, которые возможно использовать для обеззараживания почв и очищения вод, загрязнённых ОВ и продуктами их деструкции.

В ходе проведения анализа были найдены данные, свидетельствующие о возможности осуществления детоксикации малых концентраций ОВ и продуктов их деградации в реакционных массах, в почве и сточных водах. Определено, что детоксикация осуществляется путём минерализации с помощью биокатализаторов на основе микроорганизмов-деструкторов и ферментов.

Анализ позволяет в дальнейшем: обосновать выбор штаммов и ферментов, отличающихся высокой разрушающей способностью и достаточной толерантностью к ОВ; разработать направления и технологические схемы получения экиобиопрепаратов (биокатализаторов) на основе бактерий-деструкторов и ферментов; разработать технологические схемы проведения биоремедиации загрязнённых почв и очистки вод, при помощи биокатализаторов – иммобилизованных клеток бактерий и ферментов, в местах бывшего производства, хранения, уничтожения и исследования ОВ.

The work presents an overview of the literature over the last thirty years by biotechnological methods and biocatalysts, which may be used for disinfection and purification of soil and water contaminated of chemical warfare agents and products of their detoxification.

During analyzing the data was found, indicating about facilities of low concentrations of detoxication agents and their degradation products in the reactionary missing the soil and waste water. It was established, that the destruction of these substances can be performed using biocatalysts, based on microorganisms-destructors and enzymes.

On a base of analyzing further possible to justify the choice of enzymes and strains, differ from high destructive capability, and sufficient tolerance to agents, develop direction and flow diagrams for eco-bio preparation (biocatalysts) based on bacteria-destructors and enzymes. The technological scheme of the bioremediation of contaminated soils and water purification, using biocatalysts immobilized cells of bacteria and enzymes in the former site of the production, keeping, destruction and research of agents.

Ключевые слова: бактерии-деструкторы, биокатализатор, биоремедиация почв и очистка вод, нейтрализующие средства, фермент, экотоксиканты.

Keywords: bacteria-destructors, biocatalysts, bioremediation of soils and water purification, neutralizing agents, enzyme, ecotoxic substances.

Введение

В качестве приоритетных направлений в области обеспечения химической и биологической безопасности «Основы государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации на период до 2025 года и дальнейшую перспективу», предусматривают осуществле-

ние комплекса мероприятий по нейтрализации химических угроз, предупреждению и минимизации рисков негативного воздействия химических факторов, повышению защищённости населения и окружающей среды. Такая нейтрализация возможна в случае разработки и применения биологических технологий, снижающих риск негативного воздействия опасных химических факторов на население

и окружающую среду при ликвидации (обезвреживании) выведенных из эксплуатации химически опасных объектов и при проведении очистки территорий, загрязнённых в результате их деятельности.

Разнообразие природных условий, в которых расположены объекты по хранению и уничтожению химического оружия, характер и степень загрязнения окружающей среды вокруг этих объектов исключают возможность использования абсолютно идентичных схем, технологий и препаратов детоксикации высокотоксичных химикатов.

Поэтому для удаления и детоксикации токсичных веществ, загрязняющих окружающую среду на объектах по хранению и уничтожению химического оружия, могут быть использованы биокатализаторы, как на основе ферментов, микроорганизмов-деструкторов, так и природные микроорганизмы почвы. Использование штаммов микроорганизмов-деструкторов и ферментов выгодно отличается отсутствием вторичных отходов, высокой степенью деградации, возможностью полной ассимиляции продуктов, экономичностью и эффективностью, избирательностью по отношению к субстратам и не требует сложного оборудования.

Использование биокатализаторов на основе штаммов микроорганизмов и ферментов, обладающих повышенной способностью к разложению отравляющих веществ и продуктов их деструкции, в процессе очистки почв и вод

В начале 1990-х годов в научной литературе появились сообщения, касающиеся разложения ОВ в почве и водных растворах с участием микроорганизмов и ферментов [1–4].

Группой исследователей получен фермент, способный разрушать химические связи в ОВ нервнопаралитического действия (зарин, зоман, табун). Фермент – ангидралаза фосфорорганической кислоты продуцируется микроорганизмом *Tetrahymena thermophile* и может быть использован для обеззараживания почвы и других природных сред [5].

Установлено, что многие природные штаммы микроорганизмов содержат ферменты, способные вызывать гидролиз ингибиторов ацетилхолинэстеразы, включая диизопропилфторфосфонат (ДФФ), зоман и другие фосфорорганические соединения.

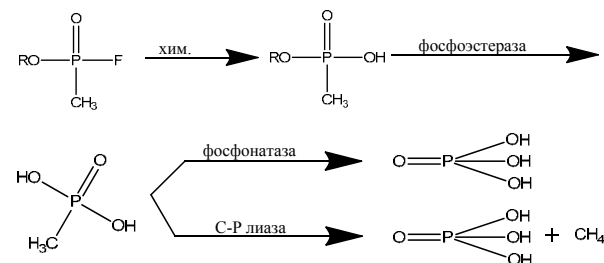
Фосфотриэстеразы, выделенные из штамма *Pseudomonas diminuta*, позволяют с высокой эффективностью проводить расщепление С-Р связи в молекулах зарина и зомана [5], а фермент пропилфторфосфатаза, полученный из клеток *Ps. diminuta* MG, осуществлял расщепление ДФФ [6, 7].

В работе [8] показано, что несколько видов морских бактерий, способных продуцировать нетоксичные ферменты, разрушают ФОВ в условиях химического заражения местности.

Поскольку ферменты – это биологические катализаторы, поэтому для нейтрализации загрязнённых территорий (почв и вод) потребуется небольшое их количество. Подтверждено, что важнейшим преимуществом ферментативных процессов детоксикации является их совместимость с любыми биологическими системами. Эта совместимость обуславливает экологическую безопасность процесса ферментативной деструкции малых концентраций ОВ и продуктов их детоксикации для территорий ОХУХО, сточных вод и отходов.

Процесс биотрансформации фосфорорганических отравляющих веществ может проходить под действием не только ферментов, выделенных из клеток бактерий, но и анаэробных и аэробных штаммов микроорганизмов или их ассоциаций, а также под действием дрожжей и грибов [9–12]. Анаэробное разложение под действием метаногенных микроорганизмов протекает при pH = 4–10, температуре от 5 до 60°C, в течение от нескольких суток до нескольких месяцев. Бионейтрализация ОВ и продуктов детоксикации делает процесс их уничтожения полностью необратимым.

По мнению учёных [13], микробиологическое разложение фосфорорганических отравляющих веществ может протекать по следующей схеме:



Деградация соединений, содержащих С-Р связь, в том числе О-изопропиловый и О-пинаколиновый эфиры метилфосфоновой кислоты (МФК), являющиеся продуктами гидролиза зарина и зомана, осуществляется практически полностью путём непосредственного расщепления С-Р связи с выделением

метана почвенными псевдомонадами, в частности, штаммом *Ps. testosterone* [14].

Аналогичные данные были получены при изучении разложения хлорметил-, пропил-, бутил-, фенил- и других замещённых фосфонатов достаточно большим количеством микроорганизмов, находящихся в условиях фосфорного голодания [15, 16].

Поиск путей микробиологического разрушения соединений, содержащих С-Р связь, чаще всего проводили с помощью имитатора – метилфосфоновой кислоты (МФК). Так, в работе [17] показано, что МФК может разрушаться клетками *Ps. aeruginosa*, *Agrobacterium radiobacter*, а также *Escherichia coli*. Авторами установлено, что более выгодно для разложения МФК использовать плотные суспензии адаптированных клеток, так как при этом не требуется строгого соблюдения стерильности. Обнаружено, что важным фактором, регулирующим разложение МФК, является аэрация. Наиболее интенсивно процесс разложения протекает в анаэробных условиях. Кислород удлиняет латентный период. При этом его влияние на рост культуры и разложение МФК зависит от концентрации субстрата в среде.

Из почвенных бактерий выделен фермент органофосфатгидролаза, разлагающий зоман и зарин [18].

Гидролизующей активностью по отношению к зоману также обладают ферменты моллюска *Rangia cuniota*. Установлено, что активность фермента моллюска может усиливаться в присутствии иона марганца [19].

Экспериментально показано, что фермент фосфотриэстераза, выделенный из *Ps. diminuta*, также активен при инактивации ФОВ [20]. Позднее были идентифицированы гены, кодирующие синтез данных ферментов, имеющих специфическую активность по отношению к зарину.

Известно, что продукт детоксикации ФОВ – метилфосфоновая кислота стабильна в окружающей среде, так как она стойка к гидролизу и термическому разложению. Это соединение было обнаружено спустя 10 лет после заражения сухой почвы на полигоне Дагуэй (США). Скорость разложения МФК в окружающей среде определяется процессами биодеструкции и прочностью связи С-Р, испарение кислоты из воды невозможно, так как МФК в воде может диссоциировать [21–23].

Установлено, что чем сильнее молекулярное строение того или иного загрязнителя отклоняется от строения близких природных

веществ, тем сложнее идёт процесс его биологического разложения [24].

Способность микроорганизмов использовать фосфорорганические соединения с С–Р связью в качестве единственного источника фосфора известна сравнительно давно. Впервые доказательство биологического расщепления С–Р связи было получено на примере *Escherichia coli*, которая в качестве единственного источника фосфора использовала метилфосфоновую или этилфосфоновую кислоты [25].

Анализ работ по микробиологическому разрушению фосфонатов показал, что в природе существует большое количество микроорганизмов-деструкторов фосфонатов, относящихся к разным систематическим группам. Такие микроорганизмы были выделены как из загрязнённых, так и, из незагрязнённых фосфонатами источников окружающей среды. Однако разлагать фосфонаты способны, скорее, только особые штаммы или определённые их ассоциации [26]. Это свидетельствует о более широком распространении фосфонат-разлагающих микроорганизмов, чем предполагалось ранее [10]. Было подтверждено отсутствие способности к деградации фосфонатов эукариотическими организмами. В то же время отмечена способность к деградации у фотосинтетического организма *Rhodobacter capsulatus*, галофильных бактерий *Chromohalobacter marismortui* и термофильных бактерий *Geobacillus caldoxylosilyticus*.

Большинство бактерий, способных разрушать фосфонаты по С–Р лиазному механизму, относятся к грамтрицательным бактериям, однако известны и представители грамположительных бактерий – *Arthrobacter sp. GLP-1* и *Bacillus megaterium*, обладающие подобной способностью. У других грамположительных бактерий С-Р лиазная активность не обнаруживалась. С-Р лиазную активность проявляют в основном отдельные представители семейств *Arthrobacteriaceae*, *Bacillaceae*, *Rhodobacteriaceae*, *Alcaligenaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Kluyvera*) и *Rhizobiaceae* (*Rhizobium*, *Agrobacterium*).

Наименее изученными являются процессы микробиологического разложения иприта – бис (2-хлорэтил) сульфида. С одной стороны, это вещество гидролизует в присутствии воды с последовательным образованием иприт-хлоргидрина и тиодигликоля, а с другой – имеются примеры поражения людей остатками иприта через 50 лет после

его попадания в почву [27]. Результатов непосредственного экспериментального изучения динамики изменения концентрации иприта в почвах в литературе нет. Возможно, что при недостатке воды в почвах иприт разлагается с образованием 1,2-бис (2-хлорэтилтио) этана и более высокомолекулярных аддуктов, а также 1,2-дихлорэтана и 1,4-дитиана. Предполагают, что иприт достаточно долго сохраняется в почве в капсулированном виде в высокомолекулярных продуктах, что замедляет его растворение и разложение [28].

В литературе имеются данные, свидетельствующие, что в водных системах происходит полное разложение иприта под действием бактерий *Ps. testosterone* и *Ps. putida*, выделенных из донного ила Мексиканского залива и утилизирующих тиодигликоль [29].

Рассматривая возможность биодеструкции иприта в водных средах, стоит отметить тот факт, что иприт сам по себе плохо растворяется в воде. Кроме того, при контакте с водой он принимает шарообразную форму и его частицы образуют нерастворимую оболочку. Эти глобулы чрезвычайно устойчивы к воздействию факторов окружающей среды. Поэтому для деструкции иприта в водной среде используют системы органических растворителей в смеси с водой. В работе [30] показана возможность использования ферментов для разложения иприта с применением 17 различных органических растворителей и воды. Было отмечено, что присутствие воды необходимо для успешного процесса деструкции данного ОВ.

Известно, что иприт и органоарсеныты необратимо воздействуют на молекулы биообъектов. Так, технический иприт и рецептура иприта реагируют с нуклеиновыми кислотами в организме с образованием мутаций. Это, в свою очередь, может ограничивать применение микроорганизмов для уничтожения иприта и органоарсенита. Применение же бактерий для разложения продуктов их нейтрализации является весьма эффективным.

Чрезвычайно сложной представляется очистка окружающей среды от мышьяка. Для снижения концентрации арсенитов в грунтовых водах до предельно допустимого уровня (50 мкг/мл) предлагается адсорбция их из водоносных пластов на мелкодисперсном алюминии [31]. Одновременно как наиболее перспективный способ удаления мышьяка из почв рассматривается адсорбция его с предварительной обработкой

почвы биоокисляющими микроорганизмами. Технология сходна с технологиями, используемыми в процессе добычи металлов. При этом происходит концентрирование содержащегося в почве мышьяка [32]. Исследования, проведенные с использованием лабораторного реактора непрерывного действия, показали, что бактерии *Sulfolobus*, окисляющие арсенопириты, обеспечивают полный переход содержащегося в почве мышьяка в раствор [33]. Выделенные из загрязнённой мышьяком окружающей среды бактерии *Ps. putida* оказались резистентны к его высоким концентрациям (10 г/л). Эти микроорганизмы разлагают метилированные производные мышьяка, что может быть использовано при биотехнологическом восстановлении почв.

Известно, что растения способны абсорбировать мышьяк и другие тяжёлые металлы из почв и грунтов и тем самым очищать их. В патенте [34] предложен способ очистки почв, загрязнённых продуктами природного и техногенного разложения токсичных веществ.

Для очистки почв от тяжёлых металлов используют сельскохозяйственные растения: сорго, суданскую траву, подсолнечник. При этом отмечается, что доступность тяжёлых металлов растениям не постоянна. Она варьируется от одного вида растений к другому, зависит от почвенных и климатических условий. К почвенным факторам, значительно влияющим на доступность поглощения тяжёлых металлов, относятся: механический состав, реакция (рН) почвы, содержание органического вещества, катионообменная способность и дренаж [35].

Для обеспечения экологической безопасности водных объектов, в которые сбрасываются сточные воды с объектов по хранению и уничтожению химического оружия, содержащие «осколки» различной химической природы, необходима система доочистки стоков от загрязнителей до регламентируемых уровней.

Так, для очистки стоков, содержащих избыточное количество фосфора, необходимо предварительное проведение трансформации в легкодоступные для бактерий формы. Например, микроорганизмы *Bacillus megaterium phosphaticum* превращают труднодоступные формы фосфора в легкоусвояемые [36].

Биологическое окисление и восстановление фосфора имеет ряд особенностей. Фосфор, подобно азоту и сере, имеет ряд валентностей от P³⁻ в фосфористом водороде до P⁵⁺ в ортофосфорной кислоте. Но, в противо-

положность азоту и сере, почти не обращалось внимания на способность микробов перевести фосфор из одной степени окисления в другую. Микроорганизмы в присутствии органического вещества способны в анаэробных условиях восстанавливать соли фосфорной кислоты вплоть до фосфористого водорода. Процесс, по-видимому, в биохимическом отношении аналогичен денитрификации [37].

Создание в очистных сооружениях чередования аэробных и анаэробных условий, может привести к активации механизма клеточного накопления и стимулирования процессов денитрификации и адсорбции фосфатов.

Наблюдения за работой производственных очистных сооружений показывают, что активный ил, выдержанный в анаэробных условиях, содержит двухвалентное железо в форме сульфида железа и фосфата закиси железа. При использовании такого ила в качестве биогенных добавок и источника Fe^{2+} в аэротенках развиваются бактерии *Leptothrix*, в метаболизм которых включается фосфат закиси железа. Он накапливается в пустых отмерших клетках бактерий в виде фосфата железа, который удаляется с избытком активного ила. В очищенной таким методом воде полностью отсутствует фосфор [38].

Аэробная биологическая очистка сточных вод ведёт к минерализации значительной части окисляемых бактериями органических веществ, но обычно не способна устранить более 50% фосфорных соединений. Возникающие трудности связаны с нарушением оптимальных соотношений углерода, азота и фосфора в активном иле, при которых оптимизирован процесс микробной утилизации этих соединений. В связи с этим при очистке сточных вод от азота и фосфора используют широко распространённый способ применения культур микроводорослей.

Имеются сообщения об успешном использовании смешанных культур бактерий и водорослей родов *Chlorella* и *Scenedesmus* для очистки сильно загрязнённых стоков. При этом достигается очистка на 90% по азоту и фосфору [39, 40].

Одним из распространённых методов очистки сточных вод является очистка с помощью альгологических культур в биопрудах. Этот метод не только экономичен, но и достаточно эффективен. Стоимость очистки в биологических прудах на единицу эффективности составляет 0,01 стоимости всей биологической очистки. Реализация водорослей,

выращенных на сточных водах, полностью возмещает стоимость обработки сточных вод.

Активный ил, включающий водоросли, при 10-часовом пребывании бытовых сточных вод в специальном пруду может обеспечивать их очистку на 97%, снижение азота на 92%, фосфора – на 74% [40].

В работе [41] установлено, что зелёные водоросли извлекают от 50 до 96% фосфора при концентрации 10-20 мг/л в течение 2-3 суток.

Анализ литературных данных по очистке сточных вод от соединений фосфора показал, что наиболее перспективным методом является комбинированный метод, сочетающий химическое осаждение с микробиологической очисткой [42–48]. Осаждение фосфатов в этом методе осуществляется путём добавления водорастворимой соли алюминия, кальция, железа или солями редкоземельных элементов (хлорид или сульфат лантана). Отделение осаждённых фосфатов можно облегчить применением флокулянта, водорастворимого органического полиэлектролита, например, частично гидролизованного полиалкиламина [49, 50].

Известны комбинированные физико-биологические методы удаления фосфора из сточных вод, примером такого метода является использование мембранного разделителя, через который пропускаются сточные воды после обработки их бактериями, потребляющими фосфор [51].

Необходимо отметить, что после применения таких комбинированных методов очистки, даже при минимальном содержании в них контролируемых загрязнителей, необходимо проведение токсикологического анализа очищенных сточных вод в связи с тем, что сложные органические вещества при разложении способны соединяться с различными продуктами метаболизма микроорганизмов с образованием весьма токсичных продуктов биосинтеза.

Токсикологическую оценку качества обезвреживаемых стоков рекомендуется проводить биотестированием с использованием живых водных организмов [52–55].

Биотестирование даёт гарантированную оценку безопасности очищенных сточных вод и позволяет выбрать такие способы очистки, которые обеспечивают не только достаточное разложение загрязнений, но и полную детоксикацию сточных вод. Это особо важно при глубокой биологической очистке воды, содержащей продукты деструкции отравляющих веществ.

Достоинства и недостатки биотехнологий и комплексов нейтрализующих средств для обеззараживания и очищения почв, грунтовых и сточных вод бывших объектов по хранению и уничтожению химического оружия

Накопленные современные знания в области фундаментальной и прикладной микробиологии, генетической инженерии и инженерной энзимологии позволяют разработать научно-техническую базу для проведения биотехнологических процессов, обеспечивающих экологически безопасную очистку почв и вод, загрязнённых малыми концентрациями ОВ и продуктами их деградации.

В настоящее время биотехнологический метод очистки почв, грунтовых и сточных вод рассматривается как дешёвый, высокоэффективный метод, не требующий сложного оборудования, поэтому применение природных микроорганизмов для восстановления нарушенных экосистем по праву занимает приоритетное место в программах Агентства по охране окружающей среды США и многих стран Европы. Особую задачу в этих программах составляет разработка плана общенациональных мероприятий по ликвидации последствий на основе ускорения её естественной деградации с помощью биопрепаратов [56]. Аналогично, в связи с законодательно закреплённой необходимостью проведения восстановительных работ на загрязнённых территориях военных объектов, биотехнологической группой Министерства обороны США создаются комплексные программы деконтаминации почв и подземных вод.

Характерно, что подробной информации о конкретных биотехнологиях в этой области нет. В опубликованных статьях указывается только о стратегии работ в полевых условиях, в которую включаются следующие этапы:

- анализ ситуации в рамках регламента подобных работ властями различного уровня;
- изучение характера и степени загрязнения, а также оценка факторов внешней среды, влияющих на процессы биodeградации;
- лабораторные исследования и научно-технические разработки;
- полевые работы;
- мониторинг и заключение об эффективности проведённых работ в соответствии с существующими стандартами.

Во многие проекты микробиологического восстановления загрязнённых экосистем

включены этапы пилотных испытаний или завершение разработок лабораторных установок [58, 59].

Биовосстановление *in situ* представляет всё больший интерес, так как решает сразу несколько проблем: не требует больших финансовых вложений, может использоваться для окончательного восстановления экосистем и является по-настоящему природоохранной технологией.

Благодаря тому, что почва содержит огромное многообразие микроорганизмов при оптимизации основных параметров их жизнедеятельности достигается быстрая и эффективная трансформация многих веществ органического происхождения, загрязняющих окружающую среду.

В случаях, когда загрязняющие соединения, попавшие в почву или водоёмы, не являются сильно токсичными, возможно использование обычных агротехнических приёмов с внесением необходимых минеральных удобрений и извести, которые способствуют быстрому самоочищению пахотного слоя почвы. Когда же загрязнения являются высокотоксичными и глубина проникновения ксенобиотиков значительна, то процессы самоочищения не работают. В таких случаях необходимо внесение специально созданных биопрепаратов на основе ферментов, иммобилизованных клеток бактерий – деструкторов, а также необходима разработка технологии биоремедиации (очистка и восстановление) почв и вод.

К достоинствам биотехнологических методов и биотехнологий, широко применяемым в различных сферах, относят наличие у них:

- достаточно большой скорости процесса биохимического разложения;
- высокой степени деградации загрязнителей;
- избирательности по отношению к субстратам;
- возможности проведения деградации до желаемых конечных продуктов;
- экологической чистоты процесса;
- экономичности.

Широкому использованию препаратов на основе иммобилизованных ферментов, для очистки почв и вод способствуют следующие их качества:

- гидролитический процесс может быть осуществлён в нейтральных, слабощелочных и слабощелочных средах;
- скорости ферментативных реакций весьма широки, в силу чего могут быть достигнуты

высокие степени конверсии в ограниченные промежутки времени;

ферменты совместимы с любыми биологическими системами, что обуславливает экологическую безопасность самого процесса ферментативного разложения малых концентраций ОВ и продуктов их детоксикации.

К недостаткам биотехнологической очистки почв и вод можно отнести тот факт, что чаще всего за рубежом в качестве катализатора на основе клеток бактерий-деструкторов используют рекомбинантные микроорганизмы, полученные в ходе генно-инженерных исследований. В настоящее время такие штаммы ограничиваются законодательством во многих странах к применению в полевых экспериментах.

Заключение

Проведённый анализ литературных данных показал, что для очистки почв и вод, загрязнённых ОВ и продуктами их детоксикации, могут быть использованы ферменты, отдельные штаммы микроорганизмов-деструкторов и различные их консорциумы как в иммобилизованном виде, так и их суспензии.

Для обеспечения безопасности и экологической чистоты территорий, очистки и восстановления загрязнённых почв, сточных и грунтовых вод в местах бывшего производства, хранения и уничтожения ОВ необходимы современные и эффективные технологии и методы обеззараживания, которые обеспечили бы восстановление и защиту окружающей среды.

Анализ исследований, проведённых отечественными и зарубежными учёными, показал, что используя методы биодегградации реакционных масс, биоремедиации загрязнённых почв и очистки вод, можно достичь полного разрушения продуктов детоксикации ОВ и повышения уровня восстановления почв, грунтовых вод за счёт уничтожения попавших в них токсичных химикатов.

В ходе проведения анализа были найдены данные, свидетельствующие о возможности осуществления детоксикации малых концентраций ОВ и продуктов их дегградации в реакционных массах, в почве и сточных водах. Определено, что детоксикация осуществляется путём минерализации с помощью биокатализаторов на основе микроорганизмов-деструкторов и ферментов.

В разрабатываемых в последнее время за рубежом Комплексных программах по

деконтаминации почв и подземных вод большое внимание уделяется биотехнологическим подходам дегазации отравляющих веществ. Информация о конкретных разработках в этой области носит конфиденциальный характер, а важные технологические сведения патентуются.

Представляется целесообразным будущие биотехнологии для очистки почв и вод, загрязнённых ОВ и продуктами их деструкции, разрабатывать на основе следующих технологических принципов:

- 1) использование биореакторов для очистки сильнозагрязнённых вод, а также смесей почв и вод;
- 2) обработку *in situ* осуществлять за счёт стимуляции роста природных микроорганизмов-деструкторов путём аэрации и введения питательных веществ;
- 3) обязательно вносить в загрязнённую почву и грунтовые воды биокатализаторы (биопрепараты) на основе иммобилизованных бактерий-деструкторов и ферментов.

Литература

1. Петров С.В., Корякин Ю.Н., Холстов В.И., Завьялова Н.В. Биотехнология в решении проблемы уничтожения химического оружия // РХЖ. 1995. Т. 39. № 4. С. 18–20.
2. Бакулин Ю.С., Завьялова Н.В., Харечко А.Т., Холстов В.И. и др. Экспериментальная проверка биодеструкции реакционных масс химической детоксикации ФОВ фосфонат-разлагающими бактериями // Федеральные и региональные проблемы уничтожения химического оружия. Выпуск № 2. М.: ВИНТИ, 2000. С. 47–52.
3. Петров С.В., Холстов В.И., Завьялова Н.В., Мягих В.И. Биодегградация фосфорорганических отравляющих веществ // Федеральные и региональные проблемы уничтожения химического оружия. М.: ВИНТИ, сборник выпуск № 1. 1999. С. 51–60.
4. Kiernan V., Bacteria with a healthy appetite for mustard gas // New Sci. 1994. V. 141. № 1914. P. 10–11.
5. Landis W.G. et al. Alternative substrates and an inhibitor of the organophosphate acid anhydrase activities of the protozoan *Tetrahymena Thermophilia* // Comp. Biochim. Physiol. 1989. № 2. P. 211–216.
6. Trapp R. // SIPRI Chemical and Biological Warfare Studies. London, Philadelphia: Taylor and Francis Ltd., 1985. № 3.
7. Attaway H., Nelson J.O., Baya A.M. et al. // Appl. And Environ. Microbiol. 1987. V. 53. № 7. P. 1685–1689.
8. De Frank J.J., Cheng T.-C. Purification and properties of organophosphorous acid anhydrase from a halophilic bacterial isolate // J. Bacteriol. 1991. № 173. P. 1938–1943.

9. Schowanek D., Verstraete W. Phosphonate utilization by bacterial cultures and enrichments from environmental samples // *Appl. Environ. Microbiol.* 1990. V. 56. P. 895–903.
10. Smith J.D. Metabolism of Phosphonates // *The role of phosphonates in living systems.* Hilderbrand, R.L., CRC Press, Boca Raton. 1983. P. 31–54.
11. Selvapandiyam A. and Bhatnagar Raj K. Isolation of glyphosate-metabolising *Pseudomonas*: detection, partial purification and localization of carbon-phosphorus lyase // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1994. V 40. P. 876–882.
12. Shinabarger D.L. and Braymer H.D. Glyphosate catabolism by *Pseudomonas* sp. strain PG2982 // *J. Bacteriol.* 1986. V. 168. P. 702–703.
13. Daughton C.G., Cook A.M., Alexander M.J. // *Agric. Food. Chem.* 1979. V. 27. № 6. P. 1375–1382.
14. Kaaijk J., Frijlink C. Degradation of S-2-DI-isopropylaminoethyl O-ethyl methylphosphonothioate in soil – sulfur-containing products // *Pesticide Science.* 1977. V. 8. № 5. P. 510–514.
15. Cook A.M., Daughton C.G., Alexander M. Benzene from bacterial cleavage of the carbon-phosphorus and of phenylphosphonates // *Biochem. J.* 1979. V. 184. № 2. P. 453–455.
16. Daughton C.G., Cook A.M., Alexander M. Biodegradation of phosphonate toxicants yields methane or ethane on cleavage of C-P bond // *FEMS Microbiol. Lett.* 1979. V. 5. № 2. P. 91–93.
17. Матыс С.В., Лауринавичюс Л.С., Несмеянова М.А. Влияние условий культивирования на разложение метилфосфоновой кислоты клетками *E.coli*. // *Биотехнология защиты окружающей среды: Тез. докл. Пушино.* 1994. С. 13.
18. Wild J.R., Ruashel. F.M. The genetic and biochemical manipulation of a broad spectrum organophosphate degrading system. Report No: 24002-Ls u.s. Department of the Army Research office Funding 1990. No: DAAZ 03-87-0017.
19. Robinson, J.P.P. Jn: *Chemical Weapons: Destruction and Conversion* // (SPJRJ) New York: Taylor Francis. 1980. P. 9–56.
20. Penski E.C. TR – ARCSL – TR – 83021. AD B07518L Aberdeen Proving Ground, MD: US Army, Res. Devel. Command, 1983.
21. Александров В.Н., Емельянов В.И. Отравляющие вещества. М.: Воениздат, 1990. 271 с.
22. Ашихмина Т.Я. Научно-методологические основы системы комплексного экологического мониторинга объектов хранения и уничтожения химического оружия. Киров: Вятка, 2001. 473 с.
23. Савельева Е.И., Радилов А.С., Кузнецова Т.А. и др. Определение метилфосфоновой кислоты и её эфиров как химических маркеров фосфорорганических отравляющих веществ // *Журнал прикладной химии.* 2001. Т. 74. № 10. С. 1677.
24. Савельева Е.И., Зенкевич И.Г., Кузнецова Т.А. и др. Исследование продуктов превращений фосфорорганических отравляющих веществ методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии // *ПХЖ.* 2002. Т. 46. № 6. С. 89–92.
25. Small M.J. Compounds formed from the chemical decontamination of HD, GB, and VX and their environmental fate. Tech Rpt8304; AD A149515. Fort Detrick, MD: U.S. Army Medical Bioengineering Research and Development Laboratory, 1984.
26. Shames S.L. Fragmentative and stereochemical isomerisation probes for homolytic carbon to phosphorus bond scission catalysed by bacterial carbon-phosphorus lyase / Shames S.L., Wackett L.P., LaBarge M.S., Kuczowski R.L. and Walsh C.T. // *Bioorg. Chem.* 1987. V. 15. P. 366–373.
27. Penski E.C. TR – ARCSL – TR – 83021. AD B07518L Aberdeen Proving Ground, MD: US Army, Res. Devel. Command, 1983.
28. Small V.J. TR – 8202 (AD – B077 091) Fort Detrick, MD: US Army Med. Res. Devel. Command, 1983.
29. Биологическая дегазация отравляющих веществ. Материалы конференции научно-исследовательских институтов НАТО М.: 1991.
30. Milstein O., Nicklas B., Huttermann A. (1989). Oxidation of aromatic compounds in organic solvents with leacase from *Trametes versicolor* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* № 31. P. 70–74.
31. Clifford D., Lin C.C. // *Government Rep.* 1991. V. 91. № 15. P. 50.
32. Kanel A. // *Rev. Polytechn.* 1990. № 5. P. 557–559.
33. Hackl R.P., Wright F.R. Bruynesteyn A. // *Appl. Organometall. Chem.* 1990. V. 4. № 4. P. 245–250.
34. Патент № RU 2185904, Рос. Федерация, С2, опубл. 27.07.2002 г.
35. Рэуце К. Борьба с загрязнением почвы. М.: Химия, 1986. 97 с.
36. Авторское свидетельство № 513939 СССР. Способ биохимической очистки сточных вод от органических соединений.
37. Кузнецов С.И. Микрофлора озёр и её геохимическая деятельность Л.: Наука, 1970. 440 с.
38. Головлева Л.А. Деградация пестицидов микроорганизмами: биотехнологические аспекты проблемы // *Микробиология очистки воды: Тез. докл. 1 Всесоюз. конф. Киев: Наук. Думка, 1982. 244 с.*
39. Леонова Л.И., Ступина В.В. Водоросли водоочистки сточных вод. Киев: Наук. Думка, 1990. 207 с.
40. Тарасенко Н.Ф., Захарчук Р.В. Очистка сточных вод биоценозами микроводорослей и бактерий активного ила // *Микробиология очистки воды. Киев: Наук. Думка, 1982. 193 с.*
41. Simonds M.A. Experience with algal bloom and the removal of phosphorum from sewage // *Water Res.* 1973. V. 7. № 1. P. 255–264.

42. Способ химической и биологической обработки сточных вод. Франция. Заявка. Заявл. 12.03.1969. № 2004566. Оpubл. Официальный бюллетень промышленной собственности, № 1-5. МКИ: С02 С1/00.
43. Способ удаления больших количеств фосфатов из сточных вод. США. Патент. Заявл. 10.04.1972. № 3716484. Оpubл. Изобретения за рубежом, 1973. № 3. МКИ: С02 С1/40 кл. США 210-52.
44. Обработка сточных вод. ФРГ. Заявка. Заявл. 3.06.1970. № 2016798. Оpubл. Патентные заявки ФРГ, 1970. № 47. МКИ: С02 С1/00, кл. ФРГ 85с-1.
45. Обработка сточных вод. Франция. Патент. Заявл. 10.04.1970. № 2043202. Оpubл. Официальный бюллетень промышленной собственности, 1971. № 9-12. МКИ: С02 С1/00.
46. Способ удаления фосфатов из сточных вод путём обработки окислом железа. США. Патент. Заявл. 20.11.1967. № 3499837. Оpubл. Официальный бюллетень по материалам патентного ведомства США, 1970. март. МКИ: С02 С5/02. Кл. США: 210-59.
47. Способ очистки от загрязнений фосфорорганическими пестицидами. США. Патент. Заявл. 24.11.1972. № 3725269. Оpubл. Изобретения за рубежом, 1973. № 6. МКИ: С02 С5/02. Кл. США: 210-59.
48. Способ химической и биологической обработки сточных вод. Франция. Патент. Заявл. 12.03.1969. № 2004566. Оpubл. Официальный бюллетень промышленной собственности, № 1-5. МКИ: С02 С1/00.
49. Удаление фосфатов из обработанной воды. США. Патент. Заявл. 31.07.1970. № 3617569. Оpubл. бюл. по матер. Патентных ведомств США, 1971. Ноябрь 1-3; МКИ: С02 С1/40. Кл. США 210-53.
50. Химический способ удаления фосфатов из сточных вод. Франция. Патент Заявл. 23.05.1969, № 32009220. Оpubл. Официальный бюллетень промышленной собственности, 1971. № 10-13, МКИ: С02 С5/00.
51. Способ удаления фосфора из сточных вод. ФРГ. Патент. Заявл. 24.05.1968. № 1959652. Оpubл. Патентные заявки ФРГ, 1971. № 25/1/. МКИ: С02 с; кл. ФРГ 85с-3/02.
52. Авторское свидетельство 228210 СССР. Способ определения токсичности сочных вод, содержащих компоненты РТ. 1984.
53. Авторское свидетельство 258499 СССР. Определение токсичности веществ по интенсивности потребления растворенного кислорода микроорганизмами .1985.
54. ОСТ В-84-2398-88. Биотестирование отраслевых сточных вод. Основные положения.
55. ОСТ В-84-2399-88. Биотестирование отраслевых сточных вод. Методы анализа.
56. Fox J.L. // Ibid. 1991. V. 9. № 11. P. 693.
57. Hutchins S. R. Biodegradation of monoaromatic hydrocarbons by aquifer microorganisms using oxygen, nitrate, or nitrous-oxide as the thermal electron-acceptor // Appl. Environ. Microbiol. 1991. V. 57. № 8. P. 2403–2407.
58. Hutchins S.R., Sewell G.W., Kovacs D.A., Smith G.A. Biodegradation of aromatic-hydrocarbons by aquifer microorganisms under denitrifying conditions // Environ. Sci. Technol. 1991. V. 25. № 1. P. 68–76.

Экспериментальная оценка микробицидного и деградационного потенциала биопрепарата деструктора фосфорорганических соединений

© 2014. К. К. Стяжкин¹, д.б.н., начальник, А. С. Туманов², к.м.н., начальник, Т. Я. Ашихмина^{3,4}, д.т.н., руководитель, Д. П. Колесников², к.т.н., начальник управления, В. В. Тетерин², к.б.н., начальник отдела, И. П. Погорельский², д.м.н., в.н.с., А. А. Лещенко², д.т.н., в.н.с., А. Г. Лазыкин², к.б.н., с.н.с., А. Р. Зиганшин², с.н.с.,
¹27 Научный центр Министерства обороны Российской Федерации,
²Научно-исследовательский центр ФГКУ 48 Центрального научно-исследовательского института Министерства обороны Российской Федерации,
³Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
⁴Вятский государственный гуманитарный университет,
e-mail: ecolab2@gmail.com

Объектом изучения является биопрепарат-деструктор фосфорорганических соединений, созданный на основе бактерий штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93. На основании всестороннего изучения штамма и биопрепарата на его основе получено санитарно-эпидемиологическое заключение на его производство. Биопрепарат предназначен для осуществления биоремедиации почвы на промплощадке объекта уничтожения химического оружия (УХО) «Марадыковский». Для её практического выполнения разработана технология производства экологически безопасного биопрепарата. Настоящие исследования предприняты с целью изучения микробицидного и деградационного потенциала биопрепарата, что предполагает оценку взаимоотношений микроорганизмов биопрепарата с почвенными микроорганизмами, а также определение глубины деструкции экотоксиканта глифосата, внесённого в почву в составе препарата «Раундап». Изучение взаимоотношений микроорганизмов биопрепарата с почвенными микроорганизмами проводили с использованием метода попарного культивирования бульонных культур на плотной питательной среде. Моделирование натуральных условий процесса биоремедиации почвы проводили на испытательном стенде с системами кондиционирования, контроля, регистрации и поддержания технологических параметров процесса биоремедиации. Эффективность деградации глифосата оценивали с использованием ВЖХ-МС с масс-селективным детектированием. Проведённые исследования по изучению взаимоотношений микроорганизмов биопрепарата с представителями почвенных микроорганизмов свидетельствует об их биосовместимости и является гарантией того, что микроорганизмы биопрепарата не будут отторгаться почвенной микробиотой. В ходе аналитического определения содержания глифосата в почве при его исходном содержании 47,6 мг/кг к 12 суткам эксперимента количество экотоксиканта в почве снизилось до уровня 0,15 мг/кг, что ниже исходного содержания в 317 раз и меньше ПДК (0,5 мг/кг). Полученные экспериментальные данные дают основание заключить, что разработанный биопрепарат при интродукции в почву, содержащую глифосат, в режиме биодополнения осуществляет эффективную биоремедиацию почвы с понижением содержания экотоксиканта глифосата ниже предельно допустимых концентраций.

The object of study is a biopreparation, created on the basis the bacteria *Pseudomonas fluorescens* strain EC-5-93, which is a destructor of organophosphorus compounds. Sanitary-epidemiological certificate for the production of the biopreparation is obtained on the basis of the comprehensive study of the strain and biological product based on it. The biopreparation is intended for bioremediation of soil in the industrial site of chemical weapons destruction plant (CWD) «Maradykovsky». The technology of production of environmentally safe biopreparation is developed for its practical implementation. The aim of the study is to explore the microbicidal and degradation potential of the biopreparation that involves the assessment of the relationship of microorganisms in the biopreparation with soil microorganisms, as well as the determination of the degree of degradation of the ecotoxicant glyphosate applied into the soil in the preparation «Roundup». The study of the relationship of microorganisms in the biopreparation with soil microorganisms was performed using the method of pairwise cultivation of broth cultures on solid medium. Simulation of natural conditions of the process of soil bioremediation was carried out on a test bench with air-conditioning systems and systems of monitoring, recording and maintenance of technological parameters of the bioremediation process. Glyphosate degradation efficiency was evaluated using HPLC-MS method with mass selective detection. Studies on the relationship of microorganisms in the biopreparation with soil microorganisms indicate their biocompatibility and are a guarantee that microorganisms in the biopreparation will not be rejected by the soil microbiota. During the analytical determination of glyphosate in soil with its original content of 50 mg/kg ecotoxicant amount in the soil decreased to 12 days of the experiment to the levels of 0.15 mg/kg, which is lower than the initial content by 317 times and less than MPCs (0.5 mg/kg). The experimental data give reason to conclude that the biopreparation developed when introduced into the soil containing glyphosate in a biocomplementary mode implements effective bioremediation of soils with the reduction of ecotoxicant glyphosate level below recommended exposure limits.

Ключевые слова: штамм-биодеструктор, фосфорорганические соединения, реакционные массы, биотехнология утилизации.

Keywords: biodestructor, organophosphate substances, reaction complexes, recycling biotechnology of reactivity complexes.

Введение

Использование производственного, научно-технического и интеллектуального потенциала организаций и учреждений, расположенных в регионах размещения объектов хранения и уничтожения химического оружия (УХО), было предусмотрено ещё в 2005 г. при разработке проекта Положения по перепрофилированию объектов после прекращения их использования по прямому назначению [1]. Как отметил директор Департамента реализации конвенционных обязательств Министерства промышленности и торговли Российской Федерации В. И. Холстов [2], перепрофилирование объектов УХО – наиболее актуальный вопрос сегодняшнего дня, решение которого напрямую связано с ликвидацией последствий работы объекта по уничтожению химического оружия. Для этого необходимо полностью избавиться от опасных отходов, осуществить дегазацию оборудования, задействованного в процессе уничтожения химического оружия. Особо отмечено, что на промплощадках, где размещены объекты УХО, будут проведены реабилитационные работы [2]. Правительство Кировской области взаимодействует с Департаментом реализации конвенционных обязательств Минпромторга России по вопросам вовлечения в хозяйственный оборот имущественной базы объекта УХО «Марадыковский» на основе инвестиционного проекта «Химико-технологический лесопромышленный комплекс» [3].

Осуществление реабилитационных мероприятий на промплощадке объекта УХО «Марадыковский» после принятия решения по его перепрофилированию с очевидностью будет включать биоремедиацию как комплекс методов очистки почвы на промплощадке с использованием метаболического потенциала таких биологических объектов, как микроорганизмы [4]. Одно из направлений биоремедиации, именуемое как биодополнение, предполагает внесение в почву биопрепаратов микроорганизмов, способных к деградации экотоксикантов. Биоремедиация, реализуемая как биодополнение, безопасна для окружающей среды, поскольку предполагает исполь-

зование микроорганизмов-деструкторов, выделенных из почвы, где предусматривается проведение реабилитационных работ. В этой связи реализация биоремедиации возможна *in situ*, то есть на месте, без вывоза почвы на специальную площадку. Относительно низкая себестоимость по сравнению с функционированием традиционных очистных сооружений, возможность мониторинга процесса очистки, а также высокий уровень очистки почвы, не уступающий традиционным методам, свидетельствуют о явных преимуществах технологии биоремедиации почвы.

По данным на 1 сентября 2013 г., доля уничтоженных отравляющих веществ (Vx, зарин, зоман, зоман вязкий) на объекте УХО «Марадыковский» составляет 98,2%, оставшееся количество фосфорорганических отравляющих веществ – 123,35 тонны [5]. Таким образом, в 2015 г. по завершении уничтожения отравляющих веществ на объекте УХО «Марадыковский» и начале осуществления реабилитационных мероприятий на промплощадке возможно реальное применение биоремедиации. Для её практического осуществления разработана технология производства экологически безопасного препарата – биодеструктора токсичных фосфорорганических соединений (ФОС) на основе бактерий штамма *Pseudomonas fluorescens* EK-5-93 [6]. Согласно экспериментальным данным [7], при уровне загрязнения почвы ФОС, равном 70–100 мг/кг, для очистки территории на 82–85% в течение 7–8 суток необходимо 0,7–1,4 мг биопрепарата при содержании в 1 г 150 млрд жизнеспособных бактерий.

Как известно, фосфонаты являются классом ФОС со связью С–Р, придающей содержащим её молекулам устойчивость к химическому гидролизу и термическому разрушению [8]. К производным фосфонатов антропогенного происхождения относятся отравляющие вещества Vx (алкилфосфонотиолят), зарин и зоман (метилфосфонофторидные эфиры), а также неселективный системный гербицид глифосат (N-(фосфометил)-глицин). Конечными продуктами их разложения являются менее токсичные алкилфосфо-

новые кислоты, а глифосата – аминотил-фосфоновая кислота, которые очень устойчивы к разложению в почве, где обнаруживаются в течение десятков лет даже на глубине свыше 1 м [9]. Большинство бактерий, для которых установлено разложение фосфонатов по С–Р лиазному механизму, в частности, для представителей рода *Pseudomonas*, относятся к грамотрицательным бактериям. Бактериальные штаммы способны полностью минерализовать как природные, так и ксенобиотические фосфонаты в качестве источников не только фосфора, но и азота и углерода [10, 11]. Фермент С–Р лиаза, синтезируемый штаммами-деструкторами ФОС, в частности, *P. fluorescens* 23F [12], отвечает за расщепления неактивированных связей С–Р алкилфосфонатов с образованием ортофосфата и соответствующих алканов, используемых бактериями в качестве единственного источника фосфора [13].

Генетика деградации фосфонатов по С–Р лиазному пути довольно хорошо изучена [13, 14]. Более того, с использованием методов генной инженерии получена рекомбинантная плазмидная ДНК рTgc TE-ОРН, детерминирующая синтез бактериями органофосфатгидролазы – фермента с высокой эффективностью его каталитического действия в реакциях разложения ФОС [15].

Таким образом, вся совокупность фундаментальных знаний о механизме биодegradации ФОС с С–Р связью [8–14] явилась основой выделения природного штамма биодеградатора *P. fluorescens* ЕК-5-93 ФОС, всестороннего изучения и создания на его основе биопрепарата для ремедиации почвы. На основании выполненных исследований по изучению биологических характеристик препарата получено санитарно-эпидемиологическое заключение № 66.МО.01.244.00000501.02 от 26.01.2012 г. на производство биопрепарата деструктора ФОС.

Материалы и методы

В работе использовали биопрепарат-деструктор ФОС и выделенную из него чистую культуру бактерий *P. fluorescens* ЕК-5-93. Исходная культура бактерий выделена методом накопительной культуры из мест естественной адаптации к ФОС, проявляет к ним в присутствии органических кислот С–Р лиазную активность, выражающуюся в расщеплении углерод-фосфорной связи [6, 7]. Для изучения биосовместимости бактерий *P. fluorescens* ЕК-

5-93 с почвенными микроорганизмами из образцов почвы выделены и идентифицированы типичные представители почвенных бактерий: бациллы *Bacillus subtilis* и *B. mesentericus*, псевдомонады *Pseudomonas putida*, *P. alcaligenes*, клебсиеллы *Klebsiella aerogenes*, протей *Proteus vulgais*, а также кишечная палочка *Escherichia coli*. В экспериментах в качестве контрольного был также использован клинический изолят *Alcaligenes faecalis*, выделенный от больного с отитом.

Культивирование бактерий штамма деструктора и изолятов почвенной микрофлоры и клинического изолята проводили на питательных средах рекомендованного состава [15]. Концентрацию живых микробов в суспензиях оценивали методом высева серийных десятикратных разведений на плотную питательную среду в чашках Петри с последующим подсчетом выросших колоний. Общую концентрацию бактерий в культурах и суспензиях определяли по стандарту мутности ГИСК им. Л. А. Тарасевича (ОСО 42-28-29-86П).

Взаимоотношения между бактериями штамма-деструктора *P. fluorescens* ЕК-5-93 с бактериями – представителями почвенной микрофлоры оценивали методом парного культивирования на плотной питательной среде по Н. А. Глушановой и Б. А. Шендерову [16].

Моделирование природных условий процесса биоремедиации почвы проводили на испытательном стенде с системами кондиционирования, контроля, регистрации и поддержания технологических параметров процесса биоремедиации. В аналитических исследованиях использовали глифосат («Fluka» Германия). При проведении исследований на испытательном стенде в почву вносили гербицид «Раундап», содержащий в 1 литре 360 г глифосата (ЗАО фирма «Август», Россия по лицензионному соглашению с фирмой «Монсанто Европа С. А.», Бельгия). Эффективность деградации глифосата в составе гербицида «Раундап», внесённого в почву, исследовали ВЖХ-МС на приборе Prominense с масс-селективным детектором LCMS-2010 («Shimadzu», Япония) и колонкой Luna C 18 («Phenomenax» США). Расчётное содержание глифосата в почве составило 50 мг/кг. Отбор проб почвы для анализа проводили в начале эксперимента и на 3-и, 6-е, 9-е и 12-е сутки. Статистическую обработку результатов экспериментов выполняли согласно рекомендациям, изложенным в руководстве И. П. Ашмарина и А. А. Воробьёва [17].

Результаты

Интродуцированные в почву микроорганизмы, как в виде чистой культуры, так и в составе биологического препарата с неизбежностью вступают во взаимодействия с почвенными микроорганизмами. Важнейшим фактором, определяющим жизнестойкость интродуцированного вида микробов, является его биотический потенциал, противостоящий сопротивлению окружающей среды. Поскольку интродуцированный вид микробов является высокоспециализированным видом, то для его роста и размножения, а также для проявления технофильных свойств нужен соответствующий субстрат, находящийся в почве. При исчерпании последнего специализированный вид микробов будет исключён из микробного консорциума почвы, и его место займут другие микроорганизмы аборигенной микрофлоры. Однако полного замещения интродуцированного вида в ряде случаев не происходит, и сохранившиеся микробы интродуцированного вида могут снижать ауторе медиационные процессы в почве за счёт подавления активности представителей аборигенной микрофлоры.

Культура бактерий *P. fluorescens* ЕК-5-93, выделенная из биопрепарата деструктора ФОС, была исследована на биосовместимость (или антагонистическую активность) с типичными представителями почвенной микрофлоры бациллами, псевдомонадами, клебсиеллами и протеем. Три оценки характера взаимоотношений различных видов микробов в условиях совместного культивирования *in vitro* [16], эти взаимоотношения могут быть антагонистическими, синергидными, индифферентными и, как следствие, совместимыми или конкурентными. Результаты оценки взаимоотношений между микробами представлены в таблице 1.

Данные таблицы 1 свидетельствуют о биосовместимости бактерий штамма-деструктора ФОС *P. fluorescens* ЕК-5-93 с микроорганизмами, выделенными из почвы. В то же время клинический изолят *A. faecalis* проявил антагонистическую активность в отношении *P. fluorescens* ЕК-5-93 в виде несовместимости с экспансивным ростом. Об этом же свидетельствуют микрофотографии на рисунке, на которых видно, что культура *A. faecalis* (рисунок А-1), выделенная от больного с ЛОР-патологией, проявила несовместимость с бактериями *P. fluorescens* ЕК-5-93 с явным экспансивным бактериальным ростом, а почвенные культуры *P. alcaligenes* и *B. subtilis* оказались биосовместимыми с культурой *P. fluorescens* ЕК-5-93.

Полученные результаты важны с практической точки зрения, поскольку бактерии специализированного штамма-биодеструктора *P. fluorescens* ЕК-5-93, вносимые в составе биопрепарата в почву, подвергаемую биодеструкции, должны быть совместимыми с почвенными микроорганизмами и не вступать с ними в конкурентные взаимоотношения. Безусловно, на начальном этапе биоремедиации, когда в почве есть субстрат (фосфонаты), штамм-биодеструктор будет иметь явное преимущество перед другими почвенными микроорганизмами, но на следующих этапах именно почвенные микроорганизмы должны будут «продолжить эстафету» биоремедиации. В этом случае чрезвычайно важны будут формы поведения микроорганизмов, которых в царстве микробов довольно много. К ним следует отнести агрессию, изоляцию, конкуренцию, афилиацию, кооперацию, координацию [18]. С точки зрения биологической интерпретации взаимодействий микроорганизмов в популяциях, колония микроорганизмов может быть рассмотрена как «клеточное государство» с разделением функциональных ролей между особями или даже как единый многоклеточ-

Таблица 1

Взаимоотношения бактерий штамма деструктора ФОС *P. fluorescens* ЕК-5-93 с представителями почвенной микрофлоры при совместном культивировании попарно на плотной питательной среде

Микроорганизмы	Характер взаимоотношений	
	биосовместимость	несовместимость
<i>B. subtilis</i>	+	–
<i>B. mesentericus</i>	+	–
<i>P. putida</i>	+	–
<i>P. alcaligenes</i>	+	–
<i>K. aerogenes</i>	+	–
<i>E. coli</i>	+	–
<i>P. vulgais</i>	+	–
<i>A. faecalis</i> (контроль)	–	+

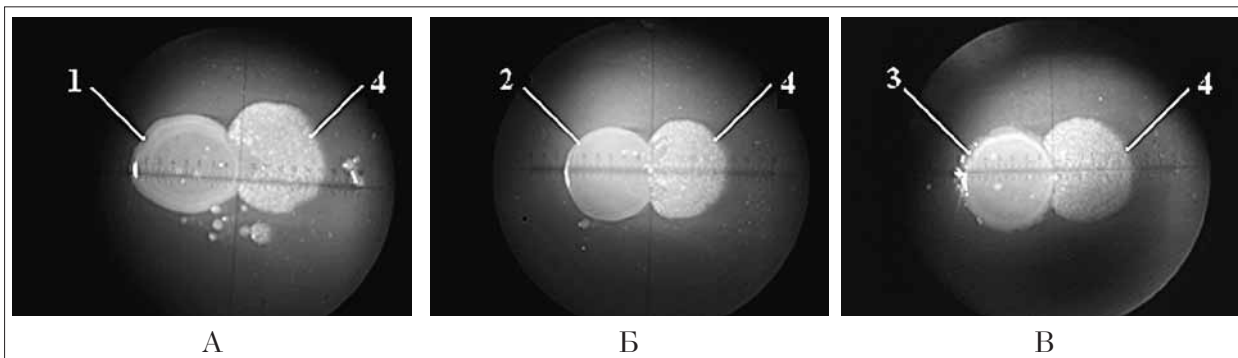


Рис. Микрофотографии бионесовместимой культуры *A.-faecalis* (1), и биосовместимых культур *P. alcaligenes* (2), *B. subtilis* (3), с культурой *P. fluorescens* EK-5-93 (4).

ный организм [18, 19]. Многие поведенческие реакции, наблюдаемые у высших животных, у микроорганизмов проявляются в «обнажённом» виде, в частности, ярко выражены биохимические, биофизические и генетические механизмы этих реакций. Например, комплексная форма поведения микроорганизмов, именуемая афiliation, проявляется в виде клеточной агрегации, зависимой от химических стимулов [18]. Именно фосфонаты как химический стимул обеспечивают согласованное участие и дифференцированное поведение бактерий штамма деструктора *P. fluorescens* EK-5-93 в зависимости от их функциональной специализации, приводящее к очищению почвы в ходе биоремедиации.

Результаты оценки биосовместимости бактерий штамма деструктора *P. fluorescens* EK-5-93 с представителями почвенной микрофлоры свидетельствуют о том, что бактерии, отобранные из мест естественной адаптации к ФОС, не являются чужеродными почвенной микрофлоры и поэтому не отторгаются микробным сообществом, несмотря на его иную функционально-морфологическую специфику, отличную от специфики монокультуры бактерий *P. fluorescens* EK-5-93.

Совместимость бактерий штамма деструктора *P. fluorescens* EK-5-93 с почвенными микроорганизмами проявилась в ходе проведения экспериментов, моделирующих

натурные условия процесса биоремедиации почвы на испытательном стенде, обеспечивающем такие условия кондиционирования, как влажность, температура, аэрация. Для бактериологического изучения отбирали пробы из верхнего слоя (не превышающего 0,1 м) грунта модулей испытательного стенда. Внесение в почву экотоксиканта «Раундап» осуществляли методом орошения. В эксперименте использовали дозу «Раундапа», пятикратно превышающую дозу гербицида, рекомендуемую при одноразовом внесении в почву для борьбы с сорняками. Через 26 часов, в течение которых происходила равномерная сорбция гербицида на почвенных частицах, в почву испытательного стенда интродуцировали исследуемый регидратированный биопрепарат (источники углерода и минеральных элементов в почву дополнительно не вносили). Пробы почвы для бактериологического исследования отбирали на 1-е, 3-и, 6-е, 9-е и 12-е сутки. Результаты исследований, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что после внесения в почву биопрепарата общее содержание микробных клеток увеличилось по сравнению с таковым в исходной дерново-подзолистой почве, что может быть связано с усиленным размножением в ней бактерий штамма деструктора *P. fluorescens* EK-5-93 и утилизацией субстрата (глифосата). В последующем (на 3-и

Таблица 2

Динамика содержания живых микробных клеток в почве (КОЕ/г) в процессе биоремедиации ($x \pm I_{95}$)

Исследуемая почва	Сутки эксперимента				
	1	3	6	9	12
Дерново-подзолистая	$(1,2 \pm 0,2) \cdot 10^6$	$(2,1 \pm 0,1) \cdot 10^6$	$(1,1 \pm 0,1) \cdot 10^6$	$(1,4 \pm 0,1) \cdot 10^6$	$(0,9 \pm 0,02) \cdot 10^6$
Дерново-подзолистая с внесённым биопрепаратом	$(1,5 \pm 0,3) \cdot 10^8$	$(3,4 \pm 0,6) \cdot 10^7$	$(1,3 \pm 0,2) \cdot 10^7$	$(1,3 \pm 0,1) \cdot 10^7$	$(4,9 \pm 0,7) \cdot 10^7$
Дерново-подзолистая с внесённым биопрепаратом без экотоксиканта	$(8,9 \pm 0,2) \cdot 10^8$	$(9,2 \pm 0,3) \cdot 10^8$	$(9,0 \pm 0,1) \cdot 10^8$	$(9,4 \pm 0,2) \cdot 10^8$	$(8,8 \pm 0,1) \cdot 10^8$

сутки) отмечается существенное снижение содержания микробов в почве с интродуцированным биопрепаратом в связи со снижением в ней количества внесённого гербицида. При этом на 3-и сутки эксперимента бактериологическим методом установлено двукратное увеличение содержания почвенных микроорганизмов в исходной почве, содержащей гербицид. Важно отметить, что даже на 12-е сутки эксперимента содержание микроорганизмов в почве с интродуцированным био-препаратом значительно превышает содержание микроорганизмов в исходной почве, и это можно с большей долей вероятности связать со сложившейся в ходе эксперимента формой существования микробных ассоциаций. Необходимо также отметить и другое: гербицид «Раундап», внесённый в исходную дерново-подзолистую почву, снижает содержание почвенных микроорганизмов вследствие токсического антибактериального эффекта с последующим их увеличением после снижения токсического действия глифосата.

Уменьшение содержания жизнеспособных микробных клеток, в том числе *P. fluorescens* ЕК-5-93, зафиксированное на 3-12-е сутки эксперимента, сопровождается интенсивной деструкцией глифосата, внесённого в составе гербицида «Раундап» в почву, о чём свидетельствуют данные, представленные в таблице 3.

Эти результаты свидетельствуют о том, что процесс биоремедиации происходил наиболее интенсивно в первые трое суток, в результате чего количество экотоксиканта уменьшилось в 3,8 раза. В последующем каждые 3 дня количество глифосата в почве, по данным аналитического определения, снижалось в 2 раза и на 12-е сутки достигло 0,15 мг/кг, что ниже исходного количества в почве в 317 раз и меньше ПДК (0,5 мг/кг).

В контрольной дерново-подзолистой почве происходила незначительная естественная биодеструкция глифосата почвенными микроорганизмами, приведшая к его снижению на 12-е сутки определения в 1,4 раза (или на 28%).

Таким образом, экспериментально подтверждена высокая биодеградативная активность бактерий штамма деструктора *P. fluorescens* ЕК-5-93 в составе биопрепарата, метаболический потенциал которого обеспечил снижение содержания фосфоната-глифосата в почве ниже значения ПДК [20], а также ниже значения ПДК для метилфосфоновой кислоты (0,22 мг/кг), являющиеся конечным продуктом гидролиза в природном комплексе фосфонатов [21].

Проведённые исследования дают основание полагать, что поиск и селекция микроорганизмов, способных к биоутилизации и трансформации реакционных масс ФОС, образующихся в процессе химической детоксикации, и которые могут попасть в почву на промплощадках объекта УХО «Марадыковский», увенчались успехом. Биопрепарат, созданный на основе микроорганизмов-деструкторов ФОС *P. fluorescens* ЕК-5-93, может быть использован в комплексе с другими средствами для решения проблемы защиты почвы от экотоксикантов и её ремедиации.

Характерной биологической особенностью бактерий штамма деструктора *P. fluorescens* ЕК-5-93, как показали настоящие исследования, является их биосовместимость с почвенными микроорганизмами, выделенными непосредственно из ячеек испытательного стенда. Этот факт является чрезвычайно важным, поскольку, как подчёркивает Г. Г. Миллер [22], в природе не существует «чистых» биосистем, и подавляющее большинство явлений, наблюдаемых в естественных условиях, является результатом эволюционно сложившихся форм существования различных ассоциаций. В этой связи особенно примечательно, что взаимоотношения между членами ассоциаций складываются на разных условиях, в том числе и на генетическом. В нашем случае бактерии штамма деструктора *P. fluorescens* ЕК-5-93 проявили биосовместимость с представителями почвенной микрофлоры: бациллами, псевдомонадами, клебсиеллами, протеом, кишечной палочкой. Следствием биосовместимости интродуцированных бактерий

Таблица 3

Динамика содержания глифосата в почве (мг/кг) в процессе биоремедиации ($x \pm I_{95}$, n=15)

Исследуемая почва	Сутки биоремедиации				
	1	3	6	9	12
Дерново-подзолистая	50,8 ± 4,1	47,5 ± 3,2	41,8 ± 2,9	39,2 ± 1,9	36,5 ± 1,2
Дерново-подзолистая с внесённым био-препаратом	47,6 ± 2,8	12,4 ± 1,3	6,1 ± 0,8	3,2 ± 0,1	0,15 ± 0,02

P. fluorescens ЕК-5-93 с почвенными микроорганизмами является отсутствие конкуренции за преимущественное использование тех или иных ресурсов, в частности, глифосата. При снижении количества последнего в почве до уровня ПДК численность бактерий штамма деструктора *P. fluorescens* ЕК-5-93 снижается вплоть до полного замещения аборигенной микрофлорой, завершающей процесс ауто-ремедиации почвы. При этом численность общего количества микроорганизмов в случае интродукции биопрепарата в почву на 12-е сутки эксперимента более, чем в 54 раза, превышает численность естественной почвенной микрофлоры в контрольной ячейке испытательного стенда (табл. 2).

Таким образом, анализируя полученные результаты по взаимоотношению бактерий штамма деструктора *P. fluorescens* ЕК-5-93 с почвенными микроорганизмами, можно отметить, что в данном конкретном случае мы соприкасаемся с проблемой ассоциации интродуцированных бактерий с почвенными бактериями (или аборигенными бактериями) и эта ассоциация взаимовыгодна. С другой стороны, мы целенаправленно используем эти ассоциации микроорганизмов для решения проблемы более высокого уровня – проблемы биоремедиации почвы, загрязнённой фосфонатами. И эта проблема имеет сугубо практическую направленность, связанную с обеспечением экологической безопасности людей, которые будут работать на территории перепрофилированного объекта УХО «Мардыковский». Судя по представленным в таблице 3 результатам, почвенная микрофлора обладает определённым деградативным потенциалом, позволяющим ей снизить к 12-м суткам эксперимента содержание глифосата в 1,4 раза в сравнении с его исходным количеством. Следовательно, ауто-ремедиация почвы без биодополнения специализированными бактериями-деструкторами фосфонатов в составе биопрепарата может растянуться во времени. В этой связи суть биодополнения как одного из направлений биоремедиации состоит во внесении (интродукции) в почву бактерий, дополняющих естественный деградативный потенциал почвенной микрофлоры.

Как показано в работе [13], среди выделенных из образцов почвы микроорганизмов, разлагающих фосфонат глифосат по С-Р лиазному типу, отсутствуют бактерии, относящиеся к роду *Pseudomonas*. Вполне вероятно, что выделенный штамм *P. fluorescens* ЕК-5-93 из места естественной адаптации к ФОС, яв-

ляется мутантом, в геноме которого присутствует оперон, аналогичный обнаруженному у кишечной палочки [23]. Данный оперон размером 10,9 т.п.о. состоит из 14 генов *phn CDEFGHIJKLMNOP*, локализованных около 92,8 мин. на хромосомной карте. Считается, что оперон транскрибируется с единственного промотора, расположенного перед геном *phnC*. На основании результатов молекулярно-генетического исследования, представленных в работе [23], можно предположить, что в процессе деградации глифосата бактериями штамма деструктора *P. fluorescens* ЕК-5-93 участвует поликомпонентная система-гены оперона и детерминируемые генные продукты, имеющие локализацию как в мембране, так и периплазме бактериальных клеток.

Анализ данных по генетике биодegradации фосфонатов по С-Р лиазному пути [10–14, 23] позволил выделить ключевые моменты, связанные с поддержанием эталонной культуры штамма деструктора *P. fluorescens* ЕК-5-93 в функционально активном состоянии в течение длительного времени. Ввиду того, что бактерии штамма были выделены из места естественной адаптации к ФОС, сам штамм можно отнести к разряду «адаптивных» мутантов [24, 25]. Накопление в почве таких мутантов требует времени, а анализ популяции мутантов свидетельствует о её гетерогенности как по морфологии колоний бактерий, так и по деградативной способности [25]. В этой связи для предотвращения увеличения гетерогенности популяции бактерий штамма *P. fluorescens* ЕК-5-93 и сохранения на высоком уровне генетически закреплённой способности к биодеструкции фосфонатов, важным для биотехнологии получения биопрепарата деструктора ФОС, был предусмотрен необходимый этап поддержания эталонной культуры бактерий *P. fluorescens* ЕК-5-93. Он предусматривал пассаж культуры бактерий на минимальной плотной питательной среде с глифосатом. Данный технологический приём подготовки эталонной культуры бактерий *P. fluorescens* ЕК-5-93 обеспечивает однородность популяции штамма и её готовность к использованию для культивирования штамма деструктора ФОС.

На основании оценки антимикробного и деградативного потенциала штамма *P. fluorescens* ЕК-5-93, входящего в состав биопрепарата деструктора ФОС, можно говорить о том, что после внесения в почву, содержащую глифосат, микробы штамма деструктора вступают в симбиотические формы взаимоотношений

с разными видами почвенных микроорганизмов. При этом для них создаются взаимовыгодные условия, и ассоцианты совместно участвуют в биодеградации экотоксиканта в почве и в целом в регуляции отношений со средой обитания, а также биоремедиации почвы.

Заключение

Проблема защиты почвы и её ремедиация в местах функционирования объекта УХО «Марадыковский» стала актуальной и в то же время решаемой задачей, связанной с катаболизмом фосфонатов антропогенного происхождения. Многие микроорганизмы, преимущественно грамотрицательные бактерии, способны к деградации фосфонатов. Экспериментально доказана множественность путей их катаболизма [13], однако только деградация наиболее стабильной С-Р связи позволяет рассчитывать на полную инактивацию фосфонатов и в последующем их безопасность для людей и окружающей среды. Физиологические и биохимические характеристики системы деградации алкилфосфонатов, выявленные у микроорганизмов, позволили специалистам НИЦ ФГКУ «48 ЦНИИ» Минобороны России разработать технологию производства экологически безопасного препарата биодеструктора ФОС на основе грамотрицательных бактерий *P. fluorescens* ЕК-5-93. Препарат способен при интродукции в почву в режиме биодополнения осуществлять эффективную ремедиацию с понижением уровня фосфонатов в почве ниже предельно допустимых концентраций.

Работа выполнена при поддержке Государственного контракта № ЦР 107/2085/У307К.

Литература

1. Чететенко В.В., Капур О.Н. Вопросы и ответы по текущим проблемам химического разоружения в регионах хранения и уничтожения химического оружия. Библиотека «Российской газеты». 2005. Вып. № 24А. 96 с.
2. Холстов В.И. Итоги реализации Федеральной целевой программы «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации» в преддверии 2014 года // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 4. С. 6.
3. Мачехин Г.Н. Уничтожение химического оружия в Кировской области // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 4. С. 19–20.
4. Баландина А.В., Ерёмченко О.З., Одегова Т.Ф., Кузнецов Д.Б. Микробная ремедиация техногенных

поверхностных образований керженецкой нефтебазы // Фундаментальные исследования. 2013. № 10. Часть 2. С. 328–333.

5. Сербин С.В., Поляков А.И., Назаров В.Д. Нормативно-правовые аспекты в сфере обеспечения экологической и промышленной безопасности при уничтожении химического оружия // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 4. С. 64–69.

6. Стяжкин К.К., Петров С.В., Туманов А.С., Завьялова Н.В., Воробьев К.А., Тетерин В.В., Погорельский И.П., Лещенко А.А., Лазыкин А.Г. Менухова В.С. Биопрепарат для ремедиации почвы в пределах зоны защитных мероприятий объекта уничтожения химического оружия «Марадыковский» // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 4. С. 41–48.

7. Стяжкин К.К., Дармов И.В., Бредихин В.Н., Воробьев К.А., Погорельский И.П., Лещенко А.А., Лазыкин А.Г. Экспериментальная оценка иммунотоксического действия штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93 // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 2. С. 54–59.

8. Freedman L.D., Doak G.O. The preparation and properties of phosphonic acid // Chem. Rev. 1957. V. 57. P. 479–523.

9. Савельева Е.И., Зенкевич И.Г., Кузнецова Т.А., Радилев А.С., Пшеничная Г.В. Исследование продуктов превращений фосфорорганических отравляющих веществ методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии // Российский химический журнал. 2002. Т. 46. № 6. С. 82–91.

10. Ternan N.G., Quinn V.P. In vitro cleavage of the carbon-phosphorus bond on phosphonopyruvate by cell extracts of the environmental Burkholderia cepacia isolate // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1998. V. 248. P. 378–381.

11. Ternan N.G., Quinn V.P. Phosphate starvation-independent 2-aminoethylphosphonic acid biodegradation in a newly isolated strain *Pseudomonas putida*, 62 // Syst. Appl. Microbiol. 1998. V. 21. P. 346–352.

12. McMullan G., Quinn V.P. In vitro characterization of a phosphate starvation-independent carbon-phosphorus bond cleavage activity in *Pseudomonas fluorescens* 23F. // J. Bacteriol. 1994. V. 176. P. 320–324.

13. Кононова С.В., Несмеянова М.А. Фосфонаты и их деградация микроорганизмами // Биохимия. 2002. Т. 67. Вып. 2. С. 220–233.

14. Варфоломеев С.Д., Ефременко Е.Н., Алиев Т.К., Ветчицева Ю.А. Рекомбинантная плазмидная ДНК рTrc ТЕ-ОРН и продуцент фермента органофосфатгидролазы // Патент РФ № 2232807 (20.07.2004). Бюл. № 20.

15. Бондаренко В.М., Лиходед В.Г. Микробиологическая диагностика дисбактериоза кишечника: методические рекомендации. М.: ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН. 2007. 70 с.

16. Глушакова Н.А., Шендеров Б.А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл

- хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro* // Журнал микробиологии. 2005. № 2. С. 56–61.
17. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Медгиз, 1962. 280 с.
18. Олескин А.В. Надорганизменный уровень взаимодействия в микробных популяциях // Микробиология. 1993. Т. 62. Вып. 3. С. 389–402.
19. Кузнецов О.Ю. Бактериальная колония как сложно организованное сообщество клеток // Журнал микробиологии. 2005. № 1. С. 3–7.
20. Генетические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды: ГН 1.2.1323-03. Утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 02.05.2003. М.: Информационно-издательский центр Минздрава России, 2003. 38 с.
21. Капашин В.П., Поляков А.И., Круглов В.А. Обеспечение экологической и промышленной безопасности объектов по уничтожению химического оружия // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 4. С. 10–18.
22. Миллер Г.Г. Биологическое значение ассоциаций микроорганизмов // Вестник РАМН. 2000. № 1. С. 45–51.
23. Metcalf W.W., Wanner B.L. Mutation analysis of an *Escherichia coli*, fourteen-gene operon for phosphonate degradation, using TnphoA elements // J. Bacteriol. 1993. V. 175. P. 3430–3442.
24. Wackett L.P., Wanner B.L., Venditti C.P., Walsh C.T. Involvement of the phosphonate regulon and the psi D locus carbon-phosphorus lyase of *Escherichia coli* K-12 // J. Bacteriol. 1987. V. 169. P. 1753–1756.
25. Matys V., Laurinavichus K.S., Krupyanko V.I., Nesmeynova M.A. Optimisation of degradation of methylphosphonate-analogue of toxic pollutants with direct C-P bond by *Escherichia coli* // Process biochemistry. 2001. V. 36. P. 821–827.

Адаптация микробных биотехнологий ремедиации почв к реальным объектам санации

© 2014. С. А. Шаров¹, начальник, отдела охраны окружающей среды,
Т. Я. Ашихмина^{2,3}, д.т.н., зав.кафедрой, зав. лабораторией,
¹Объект по хранению и уничтожению химического оружия
«Марадыковский», Кировская область,
²Вятский государственный гуманитарный университет,
³Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
e-mail: sharky2007.doost@mail.ru, ecolab2@gmail.com

Широкое применение фосфорсодержащих веществ в различных отраслях хозяйственной деятельности приводит к всё большему загрязнению окружающей среды соединениями техногенного фосфора. Отмечено, что одним из потенциальных поллютантов, подлежащих санации после деятельности объектов уничтожения химического оружия, являются фосфорсодержащие соединения. Поэтому изучение путей миграции их в компонентах природной среды и механизмов биodeградации вызывает большой интерес и является актуальным исследованием.

В статье представлен обзор работ по биodeградации фосфорсодержащих веществ, отмечены штаммы микроорганизмов, способные к разрыву связи С-Р. Рассмотрена необходимость проведения дополнительных исследований по изучению способности бактерий к биodeградации фосфорсодержащих веществ в присутствии тяжёлых металлов.

Widespread use of phosphorus-containing materials in various sectors of economic activity increases the effect of polluting the environment with technogenic phosphorus compounds. It is noted that one of the potential pollutants, subject to rehabilitation after the chemical weapons destruction plants' work is represented by phosphorus-containing compounds. Thus the study of their migration routes in the components of the natural environment and mechanisms of biodegradation is of great interest and its study is topical.

The article presents a review of researching biodegradation of phosphorus-containing materials. Microorganisms strains capable of breaking the C-P linking are marked. A need for additional studies of bacteria's ability to biodegrade phosphorus-containing compounds with heavy metals is discussed.

Ключевые слова: ремедиация, санация, биodeградация, фосфорсодержащие вещества,
биотехнологии, штаммы-деструкторы.

Keywords: remediation, rehabilitation, biodegradation, phosphorus-containing substances,
biotechnology, strains-destructors.

В настоящее время происходит повсеместное загрязнение окружающей среды фосфорсодержащими веществами (ФВ), находящими широкое применение в различных отраслях хозяйственной деятельности человека, так как они входят в состав гербицидов, инсектицидов, ингибиторов коррозии, пламегасителей, антибиотиков, ПАВ, мыломоющих соединений, полимерных добавок к сырью, фосфорорганических отравляющих веществ и продуктов их нейтрализации.

Основное накопление загрязнителей происходит в почвенном слое. Почва является уникальной биосистемой и сложно переоценить экологическую значимость почвенного покрова, т. к. почвы выполняют ряд важнейших экологических функций и являются важнейшим сорбционно-химическим барьером на

пути миграции поллютантов из атмосферы в грунтовые воды и речную сеть [1].

В рамках ведущихся разработок по ликвидации последствий деятельности объектов по хранению и объектов по уничтожению химического оружия, проводится множество исследований, направленных на поиск экономически оправданных, экологически приемлемых, эффективных способов санации почв на территориях, расположенных в непосредственной близости от объектов. Порядка 80% запасов отравляющих веществ в Российской Федерации представлены фосфорорганическими отравляющими веществами. Уничтожение данного типа веществ в рамках ФЦП «Уничтожение запасов химического оружия в РФ» проводится на 5 из 7 объектов УХО [2]. Таким образом, одним из потенциальных поллютантов, подлежащих санации

после деятельности объектов уничтожения химического оружия, являются фосфорсодержащие соединения.

В настоящее время многие научные разработки в области избирательной ремедиации почв от конкретных поллютантов ведутся с использованием микробных биотехнологий. Проведены исследования [3], в результате которых из почв с многолетним загрязнением органофосфонатами выделены новые эффективные штаммы-деструкторы глифосата и метилфосфоновой кислоты. Создана коллекция бактерий-деструкторов, способных разрушать разные типы С-Р связи, которые могут использоваться для создания технологий очистки объектов окружающей среды от органофосфатов различной структуры. Микроорганизмы, отобранные для внесения в почву, не патогенны для теплокровных животных, не обладают фито- и интегральной токсичностью и могут использоваться в процессе биоремедиации без ограничений. Разработаны способы улучшения деструктивных свойств штаммов микроорганизмов, выделенных из окружающей среды.

Из активного ила станции очистки сточных вод выделены 4 новых штамма микроорганизмов, которые активно используют в качестве единственного источника потребления фосфора изопропиловый эфир метилфосфоновой кислоты, тем самым могут участвовать в очищении почвенного слоя при ликвидации последствий деятельности объектов хранения и уничтожения химического оружия [4].

Исследование деградации гербицида глифосата бактериями *Pseudomonas* и *Proteus* показано, что они обладают способностью к биodeградации фосфометилглицина и других фосфонатов и также могут использоваться для ремедиации почв от ФВ [5].

Авторами исследования [6] рассматривается использование штамма *P. fluorescens* EK-5-93, проявляющего в присутствии органических кислот С-Р лиазную активность, характеризующуюся расщеплением углерод-фосфорной связи. Штамм способен к накоплению биомассы в процессе культивирования и обладает другими необходимыми свойствами для его использования при переработке остаточных количеств реакционных масс, образующихся при утилизации ФОС.

Исследования по деградации ФВ микроорганизмами, естественно, не ограничиваются только рассмотренными работами. В настоящее время, что очень актуально, использование биологических методов ремедиации

почв, загрязнённых ФВ рассматривается российскими и зарубежными специалистами в качестве главной альтернативы физическим и химическим методам.

Однако все имеющиеся разработки в данной области проводятся в «идеальных» условиях, нацеленных на исключение мешающих факторов. Максимальный акцент в исследованиях по применению микроорганизмов направлен на разложение целевой группы поллютантов, без учёта воздействия других токсикантов, сезонности, климатических условий региона. Таким образом, при адаптации полученных знаний в области применения микроорганизмов для деградации ФВ в природных условиях необходимы дополнительные исследования по изучению процессов разложения ФВ в присутствии наиболее широко распространённых поллютантов водной и почвенной среды.

Примером поллютантов, способных оказывать существенное влияние на численность, видовой состав и жизнедеятельность почвенной биоты, а, следовательно, и способность микроорганизмов к разложению ФВ, являются тяжёлые металлы (ТМ) [7]. ТМ составляют значительную долю загрязнителей окружающей среды и по токсичности занимают второе место после пестицидов. Однажды попав в биогеохимический цикл, они крайне редко и медленно покидают его [8]. Специфика воздействия ТМ на различные группы микроорганизмов и степень их токсичности зависят от вида металла, его концентрации и типа почвы. Например, под влиянием промышленного и транспортного загрязнения ТМ изменяется структура комплексов почвенных грибов: снижается богатство выделяемых видов, изменяется их встречаемость и в результате разнообразие комплексов грибов уменьшается. Упрощение структуры микробных комплексов при высоких дозах ТМ происходит за счёт уменьшения числа редко встречаемых видов, и в сильно загрязнённых почвах может сохраниться лишь несколько доминантных форм [9].

Степень угнетения жизнедеятельности микробоценоза зависит также от физиолого-биохимических свойств конкретных металлов, загрязняющих почву. Свинец отрицательно влияет на биотическую деятельность в почве, ингибируя активность ферментов, уменьшая интенсивность выделения диоксида углерода, снижает численность микроорганизмов, вызывает нарушения метаболизма микроорганизмов, особенно процессов дыхания и клеточного деления. Ионы кадмия в концентрации 12 мг/кг

нарушают фиксацию атмосферного азота, а также изменяют процессы аммонификации, нитрификации и денитрификации. Наиболее подвержены воздействию кадмия грибы, причём некоторые виды после попадания металла в почву полностью исчезают. Избыток цинка в почвах затрудняет ферментацию разложения целлюлозы, дыхание микроорганизмов, действие уреазы и т. д., вследствие чего нарушаются процессы преобразования органического вещества в почвах. Кроме того, токсичное влияние ТМ зависит от набора металлов и их взаимного воздействия [10].

Таким образом, наличие в почвах соединений ТМ с высокими значениями концентраций может привести к снижению показателей биохимической активности или гибели почвенных микроорганизмов, нацеленных на разложение ФВ.

Изучение деградации ФВ микроорганизмами является перспективным научным направлением. Отличительной особенностью данной технологии является экологическая безопасность процессов биоремедиации, высокая специфичность микробной деструкции, отсутствие токсичных продуктов разложения. Однако необходимы дополнительные исследования по изучению поведения бактерий в присутствии таких поллютантов, как ТМ, что позволит провести селекцию микроорганизмов, предназначенных для разложения ФВ в соответствии с конкретными условиями применения.

Литература

1. Приваленко В.В., Безуглова О.С. Экологические проблемы антропогенных ландшафтов Ростовской области. Ростов н/Д.: Изд-во СКНЦ ВШ, 2003. 288 с.
2. Постановление Правительства Российской Федерации от 21.03.96. № 305 (ред. от 09.12.10) Об

утверждении федеральной целевой программы «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации».

3. Шушкова Т.В. Биодеструкция глифосата почвенными бактериями: дис. ...канд. биол. наук: 03.01.06: защищена 2010 г. – Пущино, 2010 г. – 128 с.

4. Кравцов И.С., Янов С.Н., Дармов И.В., Ковтун А.Л. Выделение из окружающей среды микроорганизмов, способных разлагать фосфонаты // ВИНТИ РАН, ФГУП «ЦНИИХМ» Химическая и биологическая безопасность, 2006. № 6. С. 3-6.

5. Бакулин М.К., Овсянников Ю.С., Туманов А.С., Бакулин В.М. Дegradaция гербицида глифосата бактериями родов *pseudomonas* и *proteus* // Биологические науки. Фундаментальные исследования. Киров. 2014. № 8. С. 1377–1382.

6. Стяжкин К.К., Петров С.В., Туманов А.С., Завьялова Н.В., Воробьёв К.А., Тетерин В.В., Погорельский И.П., Лещенко А.А., Лазыкин А.Г., Менухова В.С. Биопрепарат для ремедиации почвы в пределах зоны защитных мероприятий объекта уничтожения химического оружия «Марадьковский» // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 4. С. 41–48.

7. Луковникова Л.В. Металлы в окружающей среде, проблемы мониторинга / Л.В. Луковникова, А.Д. Фролова, М.П. Чекунова // Эфферентная терапия. Т. 10, 2004. С. 74–79.

8. Шилов В.В. Токсикология свинца / В.В. Шилов, Е.В. Полозова, А.С. Богачева, Н.М. Фролова // Пособие для врачей. СПб: Издательство Политехнического университета. 2010. С. 4–5.

9. Жигарева Т.Л., Ратников А.Н., Свириденко Д.Г., Попова Г.Л., Петров К.В., Касьяненко А.А., Черных Н.А. Изучение взаимодействия Cd и Zn с почвенно-поглощающим комплексом и их действия на почвенный микробоценоз // Сб. Вып. 9. Калуга: АНО КНЦ, 2006. С. 268–278.

10. Алексеев Ю.В. Тяжёлые металлы в почвах и растениях. Л.: 1987. 365 с.

11. Марфенина О. Е. Микробиологические аспекты охраны почв. М.: Изд-во МГУ, 1991. 118 с.

**ПОСЕЩЕНИЕ ПОЛНОМОЧНЫМ ПРЕДСТАВИТЕЛЕМ ПРЕЗИДЕНТА РФ
В ПРИВОЛЖСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ,
ПРЕДСЕДАТЕЛЕМ ГОСУДАРСТВЕННОЙ КОМИССИИ
ПО ХИМИЧЕСКОМУ РАЗОРУЖЕНИЮ МИХАИЛОМ ВИКТОРОВИЧЕМ БАБИЧЕМ
ОБЪЕКТА «ЩУЧЬЕ» В КУРГАНСКОЙ ОБЛАСТИ**



Состоялась встреча М. В. Бабича с начальником Федерального управления по безопасному хранению и уничтожению химического оружия генерал-полковником В. П. Капашиним, директором департамента реализации конвенционных обязательств Минпромторга России В. И. Холстовым, представителями объекта и журналистами.

**В 2014 Г. ВЫШЕЛ НА ПРОЕКТНУЮ МОЩНОСТЬ
ПОСЛЕДНИЙ РОССИЙСКИЙ ОБЪЕКТ УНИЧТОЖЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ
В П. КИЗНЕР УДМУРТСКОЙ РЕСПУБЛИКИ**



**Биоиндикационные и биотестовые реакции организмов
на действие метилфосфонатов и пирофосфата натрия**

© 2014. Л. В. Кондакова^{1,2}, д.б.н., доцент, Л. И. Домрачева^{1,3}, д.б.н., профессор,
С. Ю. Огородникова^{1,2}, к.б.н., доцент, А. С. Олькова², к.т.н., доцент,
Н. А. Кудряшов³, аспирант, Т. Я. Ашихмина^{1,2}, д.т.н., профессор,
¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
²Вятский государственный гуманитарный университет,
³Вятская государственная сельскохозяйственная академия,
e-mail: ecolab2@gmail.com

Пирофосфат натрия (ПФН) и метилфосфоновая кислота (МФК) потенциально могут попадать в почву при уничтожении фосфорсодержащих отравляющих веществ. Изучена реакция микрофототрофов на воздействие разных концентраций метилфосфонатов и ПФ для разработки методов биоиндикации и биотестирования.

Испыгуемые фосфорсодержащие соединения активно влияют на развитие водорослей в почве.

Под действием возрастающих доз ПФН происходит снижение видового разнообразия водорослей и цианобактерий (ЦБ) во всех исследуемых типах почв, особенно существенное в подзолистых (на 33%) и аллювиальной дерновой (на 27%). Зелёные одноклеточные водоросли *Chlamydomonas gloeogama* и *Chlorella vulgaris* выделены среди видов, наиболее толерантных к действию поллютантов во всех почвах. Безгетероцистные из родов *Phormidium*, *Plectonema*, *Leptolyngbya* активно развиваются в дерново-подзолистой почве, загрязнённой ПФН, а азотфиксаторы из рода *Nostoc* – в аллювиальной дерновой.

МФК в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л не только стимулирует размножение водорослей, но также ускоряет ход алгосукцессий, способствуя появлению в структуре популяций гетероцистных азотфиксирующих ЦБ. В противоположность МФК, глифосат в целом отрицательно влияет на фототрофные группировки, полностью элиминируя размножение ЦБ, тормозя размножение зелёных водорослей. Внесение ГФ благоприятно для диатомовых водорослей.

Водные вытяжки, полученные из почв, загрязнённых МФК ($1 \cdot 10^{-2}$ и $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л) не влияли на жизнеспособность клеток ЦБ *Fischerella muscicola*, тогда как в вариантах с ГФ отмечали снижение жизнеспособности клеток ЦБ. Это свидетельствует о большей токсичности для фототрофных организмов производного метилфосфоновой кислоты – глифосата по сравнению с МФК.

Изученные группы фототрофных микроорганизмов можно рассматривать в качестве потенциальных биоиндикаторов на загрязнение почвы пирофосфатом натрия, метилфосфоновой кислотой и глифосатом.

During decommissioning phosphorus-containing toxic substances it is possible that sodium pyrophosphate (SPP) and methylphosphonic acid (MPA) can get into soil. Reaction of microtrophs to different concentrations of methylphosphonates and SP was researched in order to work out the methods of bioindication and biotesting.

The researched phosphorus-containing complexes actively influence the development of algae in the soil.

Under the influence of increasing SPP species diversity of algae and cyanobacteria (CB) decreases in all the soils under research, especially in podzolic soil (33%) and alluvial sod soil (27%).

Green unicellular algae *Chlamydomonas gloeogama* and *Chlorella vulgaris* are marked among the species which are the most tolerant to pollutants in all soils. The unheterocystic of the genera *Phormidium*, *Plectonema*, *Leptolyngbya* develop well in sod-podzolic soil polluted with SSP, while nitrogen fixers of the genus *Nostoc* develop in alluvial sod soil.

MPA in concentration of $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l does not only stimulate algae propagation, but also accelerates algosuccessions and contributes to the fact that heterocystic nitrogen fixing bacteria appear in the population. Unlike MPA, glyphosate influences phototrophic groups in a bad way. It fully eliminates CB propagation and hampers propagation of green algae. GP favourably influences diatomic algae.

Water extracts from soil polluted with MPA ($1 \cdot 10^{-2}$ and $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l) did not influence the vital capacity of the cells of CB *Fischerella muscicola*. In samples with GP vital capacity of CB cells was decreased. It suggests that glyphosate, a derivant of methylphosphonic acid is more toxic to phototrophic organisms than MPA.

The researched groups of phototrophic microorganisms can be considered as potential bioindicators for soil contamination with sodium pyrophosphate, methylphosphonic acid and glyphosate.

Ключевые слова: цианобактерии, водоросли, микромицеты, биоиндикация, биотестирование, пирофосфат натрия, метилфосфоновая кислота, глифосат.

Keywords: cyanobacteria, algae, fungi, bioindication, bioassay, sodium pyrophosphate, methylphosphonium acid, glyphosate.

Проблема безопасного для окружающей среды уничтожения химического оружия сохраняет свою актуальность. Лаборатория биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и ВятГУ специализируется на разработке методов мониторинга природных сред и объектов, в том числе выполняются научно-исследовательские работы по изучению воздействия метилфосфоновой кислоты и пирофосфата натрия на различные компоненты природной среды. Используя диапазоны концентраций этих соединений в природной среде и модельных опытах (*in vivo* и *in vitro*) изучали порог толерантности к ним микроорганизмов различной систематической принадлежности. Постоянными обитателями микробоценозов в любых типах почв являются водоросли, цианобактерии и микромицеты, которые могут служить биомаркерами и индикаторами состояния почвы [1–4].

Метилфосфоновая кислота (МФК) и пирофосфат натрия (ПФН), как и любые другие соединения, попадающие в почву, оказывают определённые воздействия на микрофлору, среди которой есть группы организмов, чья реакция соответствует вектору доза-эффект. Поэтому подобные группы микробов можно использовать как организмы-индикаторы и тест-организмы на определение степени загрязнения среды данными фосфорсодержащими веществами или уровня их токсичности [5–7].

ПФН и МФК потенциально могут попадать в почву при уничтожении фосфорсодержащих отравляющих веществ (ФОВ). Технология уничтожения ФОВ такова, что на первом этапе происходит гидролиз ФОВ с образованием реакционных масс [8]. Метилфосфоновая кислота – конечный продукт гидролиза и универсальный маркер ФОВ, она отличается повышенной персистентностью в

окружающей среде, сохраняется в почве десятилетиями [9]. На втором этапе уничтожения происходит сжигание реакционных масс с их деструкцией до минеральных соединений, в том числе и до ПФН [8]. Действующим веществом гербицида глифосата является производное МФК – N-фосфометилглицин. Глифосат широко применяется для борьбы с сорными растениями в сельском хозяйстве и на приусадебных участках.

Целью работы было изучить реакцию микрофототрофов на воздействие разных концентраций метилфосфонатов и ПФН для разработки методов биоиндикации и биотестирования.

С ПФН была проведена серия полевых опытов, в ходе которой были заложены модельные площадки на дерново-подзолистой, подзолистой и аллювиальной почвах. Доза внесения ПФН (расчётная доза – РД) соответствовала уровню его предельного выпадения на поверхность почвы, который рассчитывался исходя из предположения, что весь фосфор, входящий в состав фосфорорганических веществ, будет при сжигании продуктов детоксикации выброшен в атмосферу в форме ПФН. 1 РД для дерново-подзолистой почвы составила 4,5 г/м², соответственно, при 10 РД доза внесения ПФН – 45 г/м². Пробы почвы для качественного и количественного анализа альго-микробиоты отбирали через три месяца после закладки опыта.

Видовое разнообразие альгофлоры в контрольных вариантах составляло: 30 видов в дерново-подзолистой почве и по 15 видов – в подзолистой и дерновой аллювиальной почвах (табл. 1). Внесение ПФН по-разному сказывается на видовом составе водорослей в разных почвах: в дерново-подзолистой почве при внесении 1 РД число видов увеличилось с 30 до 35, в первую очередь, за счёт представителей

Таблица 1
Видовое разнообразие водорослей и цианобактерий дерново-подзолистой, подзолистой и аллювиальной дерновой почв и его изменение под влиянием пирофосфата натрия

Отдел	Тип почв, варианты								
	дерново-подзолистая почва			подзолистая			аллювиальная дерновая почва		
	К	1 РД	10 РД	К	1 РД	10 РД	К	1 РД	10 РД
Cyanobacteria	5	6	6	0	0	0	7	6	6
Chlorophyta	13	19	12	11	10	8	4	5	4
Xanthophyta+ Eustigmatophyta	7	7	3	3	4	2	3	2	1
Vacillariophyta	5	4	4	1	0	0	1	0	0
Всего	30	36	25	15	14	10	15	13	11

Примечание: К – контрольный вариант, РД – расчётная доза пирофосфата натрия.

Таблица 2

Влияние пирофосфата натрия на численность микрорфототрофов в дерново-подзолистой почве (тыс. клеток/г)

Вариант	Группы фототрофов			
	зелёные	диатомовые	цианобактерии	всего
Контроль	900±173	130±5	2100±107	3130±285
1 РД	230±6	270±15	2900±500	3400±521
10 РД	200±10	100	730±115	1030±125

Chlorophyta, и этот же показатель снижается при 10 РД с 30 до 25 видов. В двух других исследуемых почвах возрастание концентрации ПФН приводит к выпадению ряда видов и неуклонному снижению их числа.

Наиболее устойчивыми к действию ПФН видами в дерново-подзолистой и аллювиальной дерновой почве были цианобактерии (ЦБ): *Cylindrospermum licheniforme* и *Nostoc punctiforme*. Специфическая устойчивость в дерново-подзолистой почве отмечена также для *Phormidium boryanum*, *Ph. formosum*, *Plectonema boryanum*, *Leptolyngbya frigida*, а в аллювиальной дерновой – для *Cylindrospermum muscicola*, *Nostoc linckia*, *N. paludosum*. Сквозные доминирующие константные виды,

обладающие уникальной устойчивостью к ПФН во всех трёх типах почвы, относятся к Chlorophyta: *Chlamydomonas gloeogama* и *Chlorella vulgaris*. В подзолистой почве выявлен толерантный к ПФН вид – *Coccomyxa confluens*, а в дерново-подзолистой и подзолистой почвах неизменно встречаются два вида нитчатых зелёных – *Klebsormidium flaccidum* и *K. nitens*, которые не встречаются в аллювиальной дерновой почве. По степени угнетения альгофлоры ПФН почвы располагаются в следующем ряду: подзолистая > дерново-подзолистая > аллювиальная дерновая.

Прямой микроскопический учёт микрорфототрофов показал, что ПФН в концентрации 1 РД не токсичен для цианобактерий (ЦБ), а подавляет развитие только представителей Chlorophyta, тогда как при 10 РД пирофосфата натрия происходит ингибирование размножения всех групп водорослей (табл. 2) с одновременным усилением доминирования ЦБ (табл. 3), т. е. наблюдается цианофитизация фототрофных комплексов, явление, постоянно отмечаемое нами как неспецифическая реакция альго-цианобактериальных почвенных комплексов на действие разнообразных поллютантов (тяжёлые металлы, нефть и нефтепродукты, пестициды, отходы производства фторполимеров и т. д.).

Индикационным признаком на загрязнение почвы ПФН можно также считать реакцию почвенных грибов, которая проявляется в усилении степени меланизации микокомплексов (табл. 4).

Воздействие различных концентраций МФК на численность и видовой состав водо-

Таблица 3

Влияние пирофосфата натрия на структуру фототрофных микробных комплексов (%)

Вариант	Фототрофы	
	водоросли	цианобактерии
Контроль	49,0	51,0
1 РД	14,7	85,3
10 РД	14,2	85,8

Таблица 4

Влияние возрастающих концентраций пирофосфата натрия на структуру почвенных микоценозов (%)

Вариант	Микромицеты	
	с окрашенным мицелием	с бесцветным мицелием
Контроль	56,8	43,2
1 РД	69,7	30,3
10 РД	76,9	23,1

Таблица 5

Влияние метилфосфоновой кислоты (моль/л) на видовой состав водорослей и цианобактерий дерново-подзолистой почвы

Отделы	Варианты опыта					
	5 дней предварительной инкубации			20 дней предварительной инкубации		
	контроль	МФК 5·10 ⁻⁴	МФК 5·10 ⁻³	контроль	МФК 5·10 ⁻⁴	МФК 5·10 ⁻³
Cyanobacteria	9	11	9	8	11	10
Bacillariophyta	3	2	3	4	6	2
Chlorophyta	2	5	2	4	4	3
Итого	14	18	14	16	21	15

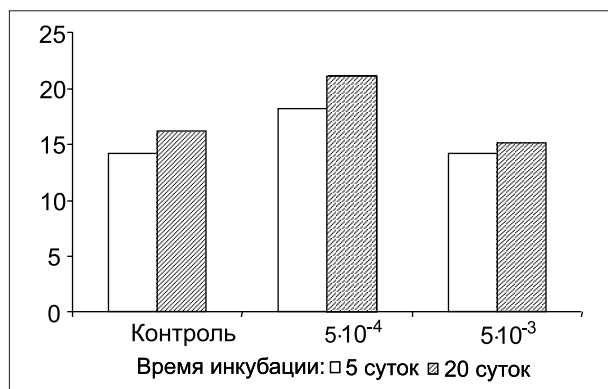


Рис. 1. Влияние метилфосфоновой кислоты на количество видов в альгогруппировках. По вертикальной оси – количество видов; по горизонтальной оси – варианты опыта: контроль без МФК, разные концентрации МФК моль/л.

рослей дерново-подзолистой почвы изучали в условиях лабораторного эксперимента.

В опытах использовали пахотную дерново-подзолистую среднесуглинистую почву, наиболее распространённую в Кировской области и на территории санитарно-защитной зоны объекта уничтожения химического оружия «Марадыковский». Почву отбирали с глубины 0–10 см. Содержание органического углерода в ней составляло 3,46%, рН водной вытяжки – 5,04. Почву с МФК в первой серии опытов инкубировали в течение 5 суток, во второй серии – 20 суток. В контрольном варианте в почву вносили дистиллированную воду, в опытных вариантах – МФК в концентрациях $5 \cdot 10^{-3}$ и $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л. После

инкубации почвенные образцы помещали в чашки Петри, увлажняя до 70% от полной влагоёмкости. На гладкую поверхность почвы раскладывали покровные стёкла, на которых в течение 3 месяцев определяли видовой состав и обилие водорослей.

Наибольшее количество видов водорослей установлено при предварительных длительных сроках инкубации почвы с МФК. На рисунке представлено количество видов, выявленных на 20-е сутки эксперимента. При этом МФК в малых дозах стимулировала развитие водорослей при любых сроках инкубации. По видовому составу в исследованной почве преобладали ЦБ (табл. 5, рис. 1).

Наиболее богатое видовое разнообразие ЦБ отмечено для варианта МФК $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л (инкубация 20 дней). Из Bacillariophyta встречались обычные для региона представители родов *Navicula*, *Hantzschia*, *Pinnularia*. Среди Chlorophyta преобладали виды родов *Chlamydomonas* и *Coccomyxa*.

В другой серии опытов установлено, что внесение в почву МФК и глифосата (производное МФК – N-фосфометилглицин) оказывает значительное воздействие на плотность фототрофных популяций (табл. 6) и на их структуру (табл. 7).

Так, МФК в низкой концентрации ($1 \cdot 10^{-3}$ моль/л) ускоряет ход альгосукцессии в почве, что проявляется в появлении гетероцистных (ГЦ) форм цианобактерий, которые практически не встречаются в других вариантах. Именно сезонное развитие гетероцистных ЦБ

Таблица 6

Влияние метилфосфоновой кислоты (МФК) и глифосата (ГФ) на численность фототрофных микробных популяций (клеток/см²)

Вариант, (моль/л)	Водоросли		Цианобактерии		Всего
	зелёные	диатомовые	безгетероцистные	гетероцистные	
Контроль (0)	192±37	92±12	717±62	не обнаруж.	1001±112
МФК ($1 \cdot 10^{-3}$)	167±37	212±5	1167±22	450±25	1996±89
МФК ($1 \cdot 10^{-2}$)	142±27	67±12	332±12	не обнаруж.	541±49
ГФ ($1 \cdot 10^{-4}$)	82±12	555±25	не обнаруж.	не обнаруж.	637±37
ГФ ($1 \cdot 10^{-3}$)	457±22	450±100	не обнаруж.	не обнаруж.	907±122

Таблица 7

Особенности структуры фототрофных микробных комплексов в условиях загрязнения почвы метилфосфоновой кислотой и глифосатом (%)

Вариант, (моль/л)	Водоросли		Водоросли	Цианобактерии
	зелёные	диатомовые		
Контроль (0)	67,4	32,6	28,4	71,6
МФК ($1 \cdot 10^{-3}$)	43,9	56,1	19,0	81,0
МФК ($1 \cdot 10^{-2}$)	67,9	32,1	38,6	61,4
ГФ ($1 \cdot 10^{-4}$)	12,9	87,1	100	0
ГФ ($1 \cdot 10^{-3}$)	50,4	49,6	100	0

в нашей зоне и становится завершающей климаксной стадией альго-цианобактериальных сукцессий. При этом в данном варианте наблюдается максимальная суммарная численность водорослей и ЦБ, которая практически в 2 раза превышает аналогичный показатель в контроле. Следовательно, низкие концентрации МФК выступают как стимулятор развития таких групп фототрофов, как диатомей, а также безгетероцистные и ГЦ формы цианобактерий. Повышение концентрации МФК приводит к угнетению прокариотных водорослей (ЦБ).

Другое соединение, глифосат (ГФ), на развитие фототрофных группировок действует парадоксальным образом: угнетая развитие водорослей при более низкой концентрации и стимулируя их размножение, по сравнению с контролем, при более высокой концентрации (табл. 6). Особенно ярко стимулирующий эффект проявляется в отношении диатомовых водорослей. Однако ГФ полностью подавляет развитие ЦБ, которые по отношению к самым разным поллютантам обычно выступают в роли наиболее стойких микроорганизмов.

Анализ структуры фототрофных комплексов (табл. 7) показывает широкую вариабельность представительства водорослей и ЦБ в различных вариантах.

Из водорослей в контроле доминируют зелёные, численность которых более чем в 2 раза превышает численность диатомей. При сравнении представительства водорослей и ЦБ видно, что на долю ЦБ приходится более 70% в структуре фототрофных популяций. ЦБ представлены только в контроле и в вариантах с внесением МФК. Причём при малой концентрации МФК численность ЦБ на 10% больше, чем в контроле, а при большой – на 10% меньше. Внесение в почву ГФ полностью тормозит развитие ЦБ. Фототрофные популяции на 100% состоят из водорослей. ГФ в концентрации $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, подавляя развитие зелёных водорослей (табл. 6, 7), стимулирует размножение диатомовых водорослей как в абсолютном количестве (555 кл./см² против 92 кл./см² в контроле), так и в долевого участия (87,1% против 9,2% в контроле).

Были проведены лабораторные опыты по изучению токсичности водных вытяжек из почв, загрязнённых растворами МФК и ГФ. Окультуренную дерново-подзолистую почву помещали в сосуды и увлажняли растворами МФК и ГФ, время инкубации – 2 недели. Оценивали токсичность вытяжек из почв по жизнеспособности клеток ЦБ *Fischerella muscicola*.

В качестве признака жизнеспособности клеток ЦБ был выбран фермент дегидроге-

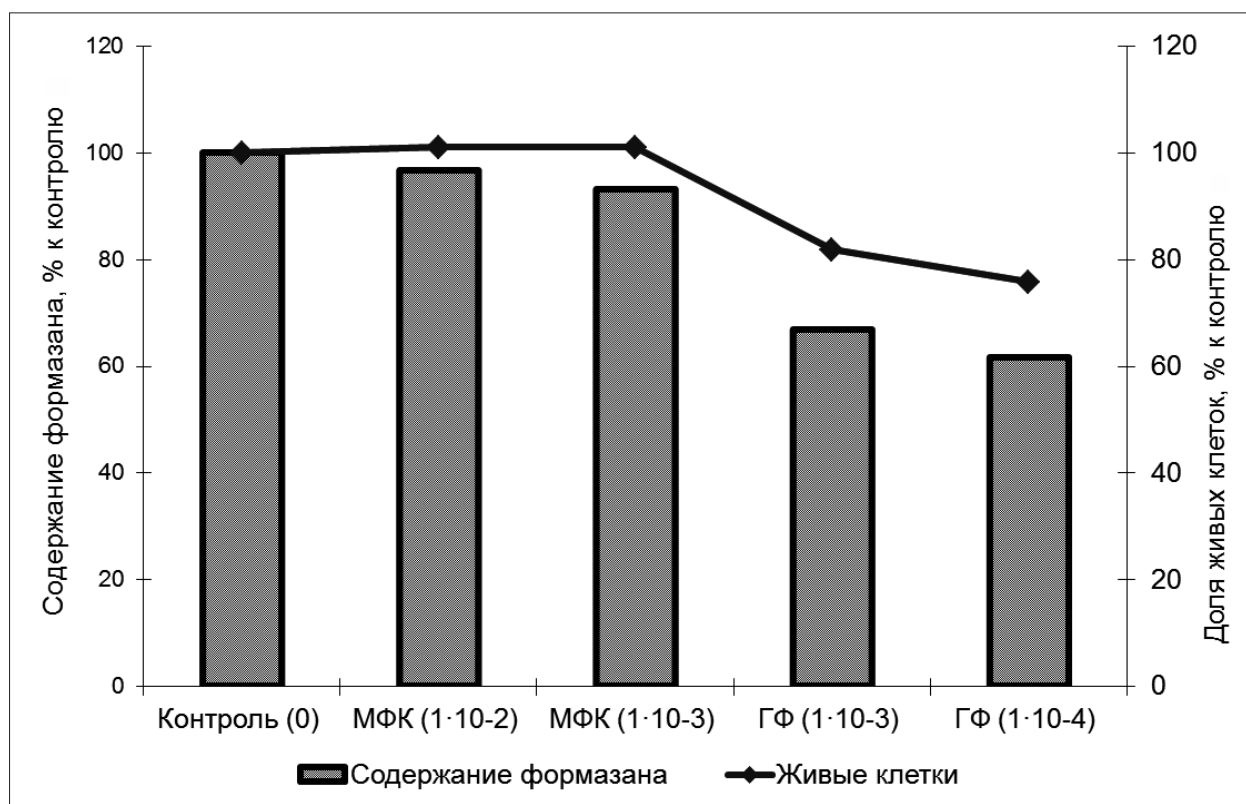


Рис. 2. Влияние почвенной вытяжки на жизнеспособность и накопление формазана в клетках *Fischerella muscicola*.

наза, который работает в живых клетках и инактивируется в клетках погибших. В живых клетках при участии фермента дегидрогеназы происходит образование кристаллов формаза красного цвета из бесцветного трифенилтетразолий хлорида. Дегидрогеназную активность клеток ЦБ оценивали тетразолюно-топографическим методом [10] и по количественному накоплению формаза в клетках ЦБ [11].

При определении жизнеспособности клеток тетразолюно-топографическим методом было установлено, что водные вытяжки из почв, загрязнённых МФК, практически не влияют на жизнеспособность клеток ЦБ (рис. 2). Вытяжки, полученные из почв, загрязнённых ГФ, оказывают токсическое действие на клетки ЦБ, при этом сходные эффекты выявлены в опытах с внесением разных концентраций ГФ (табл. 2).

Одновременно с оценкой жизнеспособности клеток ЦБ *Fischerella muscicola* тетразолюно-топографическим методом было определено количественное накопление формаза в культуре ЦБ. Выявлена тесная корреляция между данными по оценке жизнеспособности клеток ЦБ, полученными разными методами ($r=0,99$).

Снижение жизнеспособности клеток ЦБ *Fischerella muscicola* в водных вытяжках, полученных из почв, загрязнённых ГФ, и отсутствие эффекта в вариантах с МФК свидетельствует о большей токсичности ГФ для фототрофных организмов по сравнению с МФК.

Таким образом, в ходе проведённых исследований было установлено, что испытуемые фосфорсодержащие соединения активно влияют на развитие водорослей в почве. Сила и вектор влияния во многом определяются концентрацией веществ.

Под влиянием возрастающих доз ПФ происходит снижение видовой разнообразия водорослей и ЦБ во всех исследуемых типах почв, особенно существенное в подзолистых (на 33%) и аллювиальной дерновой (на 27%). Зелёные одноклеточные водоросли *Chlamydomonas gloeogama* и *Chlorella vulgaris* выделены среди видов, наиболее толерантных к действию поллютантов во всех почвах. БГЦ из р.р. *Phormidium*, *Plectonema*, *Leptolyngbya* активно развиваются в дерново-подзолистой почве, загрязнённой ПФН, а азотфиксаторы из рода *Nostoc* – в аллювиальной дерновой.

МФК в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л не только стимулирует размножение водорослей,

но также ускоряет ход альгосукцессий, способствуя появлению в структуре популяций ГЦ азотфиксирующих ЦБ. В противоположность МФК, ГФ в целом отрицательно влияет на фототрофные группировки, полностью элиминируя размножение ЦБ, тормозя размножение зелёных водорослей. Внесение ГФ благоприятно для диатомовых водорослей.

Водные вытяжки, полученные из почв, загрязнённых МФК ($1 \cdot 10^{-2}$ и $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л) не влияли на жизнеспособность клеток ЦБ *Fischerella muscicola*, тогда как в вариантах с ГФ отмечали снижение жизнеспособности клеток ЦБ. Это свидетельствует о большей токсичности для фототрофных организмов производного метилфосфоновой кислоты – глифосата по сравнению с МФК.

Следовательно, ПФН, МФК и ГФ можно считать своеобразными селективирующими агентами в отношении почвенных водорослей и ЦБ. Вследствие этого данные группы фототрофных микроорганизмов можно рассматривать в качестве потенциальных биоиндикаторов на загрязнение почвы пиррофосфатом натрия, метилфосфоновой кислотой и глифосатом.

Литература

1. Штина Э.А., Голлербах М.М. Экология почвенных водорослей. М.: Наука, 1977. 143 с.
2. Домрачева Л.И. «Цветение» почвы и закономерности его развития. Сыктывкар, 2005. 336 с.
3. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. М.: Медицина для всех, 2005. 192 с.
4. Терехова В.А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. М.: Наука, 2007. 215 с.
5. Ашихмина Т.Я., Кондакова Л.В., Домрачева Л.И., Огородникова С.Ю. Метилфосфоновая кислота как регулятор биологических процессов в экологических экосистемах: действие на микроорганизмы, ферментативную активность и высшие растения // Теоретическая и прикладная экология. № 2. 2007. С. 78–87.
6. Кондакова Л.В., Огородникова С.Ю., Ашихмина Т.Я., Домрачева Л.И. Влияние метилфосфоновой кислоты на развитие водорослей в почве // Ботанический журнал. 2009. Т. 94. № 1. С. 42–48.
7. Кондакова Л.В., Домрачева Л.И., Олькова А.С. Влияние пиррофосфата натрия на альгоценозы почв Кировской области // Ботанический журнал. 2011. Т. 96. № 4. С. 494–503.
8. Ашихмина Т. Я. Комплексный экологический мониторинг объектов хранения и уничтожения химического оружия. Киров: Вятка, 2002. 544 с.
9. Савельева Е. И., Зенкевич И. Г., Кузнецова Т. А., Радилов А. С., Пшеничная Г.В. Исследование продук-

тов превращений фосфорорганических отравляющих веществ методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии // Российский химический журнал. 2002. Т. 46. № 6. С. 82–91.

10. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Ашихмина Т.Я., Фокина А.И., Огородникова С.Ю., Олькова А.С. Применение тетразольно-топографического метода определения дегидрогеназной активности цианобактерий в загрязнённых средах // Теоретическая и прикладная экология. 2008. № 2. С. 23–29.

11. Огородникова С.Ю., Домрачева Л. И., Горностаева Е. А., Фокина А. И. Методические подходы к количественному определению формазана в клетках цианобактерий // Актуальные проблемы региональной экологии и биодиагностика живых систем: Материалы XI Всероссийской научно-практической конференции-выставки инновационных экологических проектов с международным участием. (г. Киров, 26–28 ноября 2013 г.). Киров: ООО «Лобань», 2013. С. 48-51.

УДК 631.46:58.051

Изучение реакций почвенных актиномицетов на отдельные продукты деструкции химического оружия

© 2014. Т. Я. Ашихмина¹, д.т.н., зав. лабораторией, Е. В. Товстик², аспирант,
С. Ю. Огородникова¹, к.б.н, с.н.с., И. Г. Широких^{1,2}, д.б.н., в.н.с.

¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,

²Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства

Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого,

e-mail: irgenal@mail.ru

В ходе проведения мониторинговых исследований вблизи объекта хранения и уничтожения химического оружия «Марадьковский» из верхних горизонтов почв в чистую культуру было выделено более 100 штаммов стрептомицетов. С целью поиска толерантных к продуктам деструкции химического оружия штаммов проведено изучение отклика природных изолятов актиномицетов на действие пиррофосфата натрия, метилфосфоновую кислоту и мышьяк в градиенте концентраций. Для каждого поллютанта установлены дозы, стимулирующие и ингибирующие рост актиномицетов на стадии спор и вегетативного роста, проявление ими метаболической активности: продукцию антибиотиков, разложение целлюлозы. Выявлены культуры актиномицетов, перспективные для создания микробных биопрепаратов для ремедиации почв, импактных по мышьяку и фосфорсодержащим ксенобиотикам.

In the course of monitoring near the chemical weapons storage and destruction plant «Maradykovsky», more than 100 strains of *Streptomyces* were stated from the soil surfaces into the pure culture. In order to find the strains which are tolerant to chemical weapons degradation products, the response of natural isolates of actinomycetes to sodium pyrophosphate, methylphosphonic acid, and arsenic concentration gradient was studied. For each pollutant a special dose was set, which could stimulate and inhibit either the growth of actinomycetes at the stage of spores and at the stage of vegetative growth, or their metabolic activity consisting in production of antibiotics, or cellulose decomposition. Actinomycetes cultures were found, which are promising for creating microbial inoculants for remediation of soils impacted with arsenic and phosphorus xenobiotics.

Ключевые слова: химическое оружие, продукты деструкции, пиррофосфат натрия, метилфосфоновая кислота, мышьяк, почвенные актиномицеты, прорастание спор, скорость роста, биомасса, антагонисты, целлюлозолитическая активность.

Keywords: chemical weapons destruction products, sodium pyrophosphate, methylphosphonic acid, arsenic, soil actinomycetes, spore germination, growth rate, biomass, antagonists cellulolytic activity.

Введение

Объекты хранения и уничтожения химического оружия относятся к числу предприятий повышенной химической опасности для природных комплексов и экосистем [1]. При промышленном уничтожении химического оружия (ХО) среди продуктов деструкции отравляющих веществ мышьяк и техногенные формы фосфора выступают в качестве приоритетных загрязнителей почвенного покрова. В связи с этим особое значение приобретает поиск толерантных к данным загрязняющим веществам организмов, которые могли бы в дальнейшем использоваться для разработки биотехнологий ремедиации нарушенных вследствие уничтожения химического оружия почв и водных экосистем.

В силу большого разнообразия биохимических функций и высокой толерантности к изменяющимся условиям среды перспективными в этом плане представляются почвенные мицелиальные бактерии – актиномицеты [2, 3]. Актиномицеты играют важную роль в поддержании гомеостаза любой почвенной экосистемы, а также участвуют в процессах детоксикации и обеззараживания почв [4]. В предыдущих исследованиях были установлены количественные и качественные различия актиномицетных комплексов в ряду подзолистых и дерново-подзолистых почв лесных и луговых фитоценозов в зоне действия объекта хранения и уничтожения химического оружия (ОХУХО). Существенные отклонения в структуре комплексов почвенных актиномицетов, обусловленные воздействием совокуп-

ности техногенных факторов хранения ХО, строительства Объекта по его уничтожению, выявлены в почвах луговых и лесных фитоценозов внутри зоны, радиусом 8 км от Объекта. За период деятельности Объекта в режиме уничтожения ХО в почвах внутри зоны радиусом 2,7 км от ОХУХО произошли перестройки в структуре актиномицетных комплексов, свидетельствующие об их возвращении к состоянию, в большей степени, чем ранее, характерному для комплексов мицелиальных прокариот луговых и лесных фитоценозов гумидной зоны [5, 6]. В ходе проведения этих исследований из верхних горизонтов почв вблизи ОХУХО «Марадыковский» в чистую культуру было выделено более 100 штаммов стрептомицетов. Изучение ответных реакций некоторых природных изолятов на отдельные продукты деструкции химического оружия и явилось целью данной работы.

Объекты и методы

Для изучения отклика стрептомицетов на действие метилфосфоновой кислоты (МФК), пирофосфата натрия и мышьяка в градиенте концентраций служили природные изоляты из почв, отобранных на территории ЗЗМ ОХУХО «Марадыковский» (табл. 1).

Исследуемые штаммы актиномицетов поддерживали методом периодического пересева на свежую овсяную среду с последующим культивированием при температуре 27°C в течение суток [7].

Исследования реакций актиномицетов проводили в модельных опытах. Изучали влияние МФК на динамику общей численности и численности представителей отдельных родов актиномицетов в ходе сукцессий, вызванных увлажнением почвы водой и растворами МФК в различных концентрациях.

Для опыта использовали образцы воздушно-сухой дерново-подзолистой супесчаной почвы (рН_{ккл} 5,3), которые помещали в чашки Петри и увлажняли растворами МФК до 60% от ПВ почвы. Использовали растворы, содержащие 0,00001; 0,0001; 0,001; 0,01, 0,1 моль/л МФК, что в пересчёте на почву составляло 0,4; 3,5; 3,5·10¹; 3,5·10²; 3,5·10³ мг/кг. Каждый вариант включал три повторности. Для разделения эффектов токсического действия МФК и подкисления МФК среды, использовали вариант с водным раствором метилфосфоновой кислоты, приготовленным на фосфатном буфере рН 6,86. В контроле для увлажнения почвы использовали дистиллированную воду (рН 5,0).

В момент закладки опыта и на 1; 7; 14; 21 сутки сукцессии производили отбор средней пробы почвы, подсушивали и прогревали почву при 70°C в течение четырёх часов для ограничения роста немцелиальных бактерий. Готовили почвенные суспензии и производили из них посев на среду с пропионатом натрия в трёхкратной повторности. Чашки с посевами инкубировали в термостате при 27°C в течение 10–12 суток и далее при комнатной температуре в течение трёх недель.

Таблица 1

Характеристика природных изолятов, использованных в модельных экспериментах

Источник выделения	Штамм	Секция и серия	Синтез меланоидов/антибиотиков [Гаузе, 1983]
Почва лугового фитоценоза	<i>Streptomyces albus</i> 141.15	Albus Albus	- / +
Почва пастбища	<i>Streptomyces bottropensis</i> 140.4	Cinereus Chromogenes	+ / +
Почва лугового фитоценоза	<i>Streptomyces plicatus</i> 103.9		- / +
	<i>Streptomyces chromofuscus</i> 140.6		+ / +
	<i>Streptomyces xantocidicus</i> 135.4		- / +
	<i>Streptomyces variabilis</i> 73.3		- / +
	<i>Streptomyces hygrosopicus</i> 135.3		- / +
Почва лесного фитоценоза	<i>Streptomyces wedmorensis</i> 38.11	Cinereus Achromogenes	- / +
	<i>Streptomyces werraensis</i> 88.6		- / +
Почва лугового фитоценоза	<i>Streptomyces odorifer</i> 103.4	Helvolo-Flavus Helvolus	- / -
Почва лесного фитоценоза	<i>Streptomyces helvaticus</i> 42.35		- / -

Проводили дифференцированный подсчёт колоний, выделяя по морфологическим признакам четыре морфотипа, соответствующих родам *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Streptosporangium* и группе олигоспоровых актиномицетов [8].

Скорость роста колоний актиномицетов определяли по увеличению диаметра колоний за определённый промежуток времени, используя для расчёта формулу (1) [9].

$$K_r = \frac{d_2 - d_1}{t_2 - t_1}, \quad (1)$$

где K_r – радиальная скорость роста, мм/час; d_1 и d_2 – диаметр колоний, мм; t_1 и t_2 – начальный и конечный моменты времени измерения соответственно, час.

Накопление биомассы культурами актиномицетов определяли гравиметрически [10].

Наблюдения за интенсивностью прорастания спор актиномицетов проводили с использованием микроскопа «Leica DM2000», Германия.

Антибиотическую активность актиномицетов изучали методом агаровых блочков [11].

Определение целлюлозолитической активности осуществляли на среде Гетчинсона с карбометилцеллюлозой [12].

Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами дисперсионного анализа [13] с использованием программ EXCEL 7 и STATGRAFICS.

Результаты и обсуждение

Действие метилфосфоновой кислоты на расписание появления колоний актиномицетов. Исследование сукцессионной динамики общей численности актиномицетов в почве с добавлением МФК в градиенте концентраций от 0,00001 до 0,1 моль/л выявило её отличия от динамики численности в контрольном варианте. В ходе сукцессии отмечали уве-

личение (от 10^4 до 10^5 КОЕ/г) общей численности актиномицетов во всех вариантах опыта, независимо от присутствия в почве МФК. Однако степень этого увеличения, в контрольном варианте и вариантах с МФК на разных этапах сукцессии была различной. На начальном этапе сукцессии (1-е сутки) под воздействием МФК в низкой концентрации отмечали увеличение численности в пределах одного порядка (10^4 КОЕ/г), а в присутствии самой высокой в опыте концентрации (0,1 моль/л) – на порядок (от 10^4 до 10^5 КОЕ/г), по сравнению с контрольным вариантом. На завершающем этапе сукцессии (21 сутки) общая численность актиномицетов в почвах, испытывающих воздействие МФК (0,0001–0,1 моль/л), оставалась стабильной, тогда как в контрольном варианте к этому сроку наблюдений общая численность актиномицетов уже существенно снижалась. Добавление МФК в почву, таким образом, способствовало увеличению продолжительности сукцессии актиномицетов. Сопоставляя полученные результаты с данными литературы, необходимо отметить, что экспериментальное внесение МФК в дерново-подзолистую пахотную почву стимулировало размножение в ней водорослей и цианобактерий [14, 15]. Авторы связывают данный эффект с микробной деструкцией метилфосфоновой кислоты, сопровождающейся высвобождением фосфат-иона, который мог быть использован в качестве источника минерального питания.

Действие метилфосфоновой кислоты на прорастание спор стрептомицетов. При изучении динамики прорастания спор *S. xantocidicus* 135.4 в присутствии возрастающих доз МФК, установлено угнетающее действие МФК в отношении споровой части популяции стрептомицета во всём градиенте исследованных концентраций (0,001–0,1 моль/л) и в течение всего периода наблюдений (120 ч) (рис. 1).

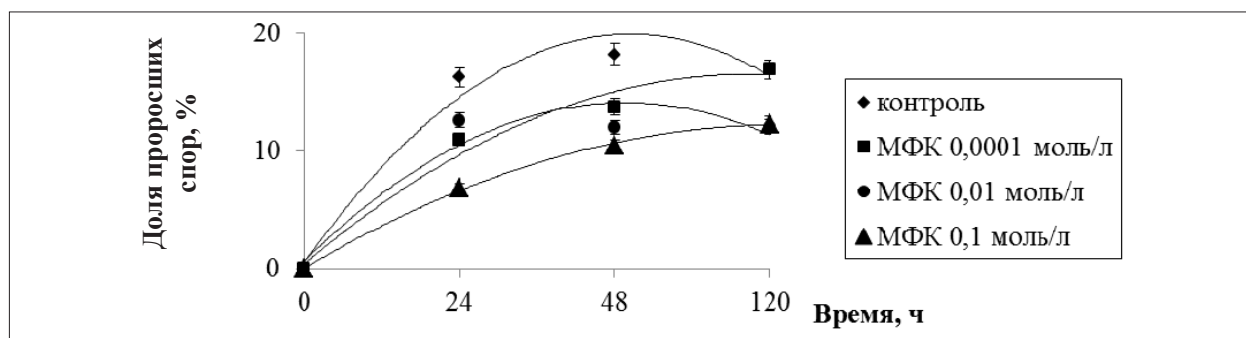


Рис. 1. Динамика интенсивности прорастания спор *Streptomyces xantocidicus* 135.4 при различных концентрациях МФК в почве.

Показано, что максимальное ингибирующее действие МФК (0,0001–0,1 моль/л) на интенсивность прорастания спор имело место на первом этапе сукцессии и с течением времени ослаблялось (в 2 раза), однако не устранялось полностью. К моменту окончания опыта (120 ч), на фоне увеличения доли проросших спор во всех вариантах, ингибирующее действие МФК сохранилось только для более высоких концентраций (0,01 и 0,1 моль/л). Действие МФК в концентрации 0,0001 моль/л на интенсивность прорастания спор к моменту завершения эксперимента (120 ч) в эксперименте не выявлено.

Действие пирофосфата натрия на кинетику роста и физиологические свойства стрептомицетов. При изучении действия возрастающих доз ПФН на радиальную скорость роста культур *Streptomyces rectus* 73.3, *S. werraensis* 88.6, *S. wedmorensis* 38.11, *S. helveticus* 42.35, *S. chromofuscus* 140.6 на агаровой среде с добавлением $1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л ПФН, выявлены их кинетические различия в отношении этого загрязнителя (рис. 2).

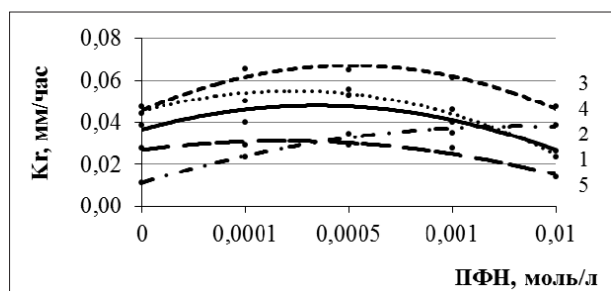


Рис. 2. Скорость роста *Streptomyces rectus* 73.3 (1), *S. chromofuscus* 140.6 (2), *S. helveticus* 42.35 (3), *S. werraensis* 88.6 (4), *S. wedmorensis* 38.11(5) в зависимости от концентрации ПФН.

Так, у штаммов 42.35 и 73.3 скорость роста существенно возрастала (до 0,055–0,065 мм/час) при действии $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л ПФН и уменьшалась в случае более высоких концентраций ПФН, тогда как для штамма 88.6 она возрастала во всём диапазоне исследуемых концентраций ПФН. Таким образом, ингибирующие мицелиальный рост концентрации ПФН для стрептомицетов видоспецифичны и составляют не менее 0,0005 моль/л. При меньших концентрациях, напротив, наблюдалось стимулирующее вегетативный рост действие ПФН на актиномицеты.

Накопление сухой биомассы *S. wedmorensis* 38.11 при выращивании в жидкой среде с добавлением ПФН снижалось пропорционально увеличению концентрации ПФН, начиная с 7-и суток культивирования (рис. 3).

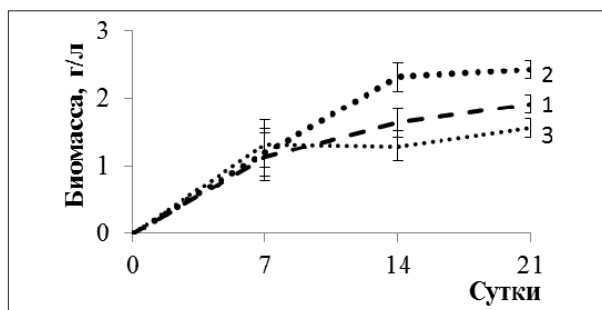


Рис. 3. Динамика накопления биомассы штаммом *Streptomyces wedmorensis* 38.11 в среде с 0,0001 (2); 0,001 (1); 0,01 (3) моль/л ПФН.

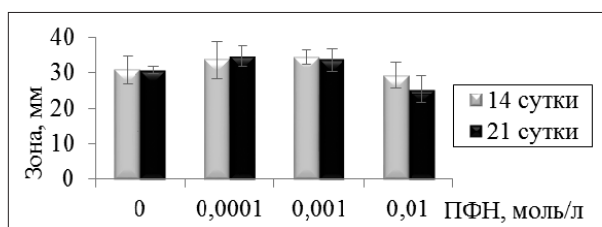


Рис. 4. Средние значения зон угнетения роста *Fusarium oxysporum* U1, *F. culmorum* T8, *F. avenaceum* 7/2 водорастворимыми метаболитами *Streptomyces wedmorensis* 38.11 при разных концентрациях ПФН.

Добавление 0,01 моль/л ПФН в среду для выращивания *S. wedmorensis* 38.11 угнетало антагонистическую активность стрептомицета в отношении грибов рода *Fusarium* (рис. 4).

В меньших концентрациях (0,0001; 0,001 моль/л) ПФН не оказала существенного влияния на способность культуры стрептомицета синтезировать антибиотики.

Реакция стрептомицетов на мышьяк.

Поскольку актиномицеты – организмы со сложным циклом развития, включающим вегетативную и споровую стадии, представляло интерес изучить влияние мышьяка на споры. Методом люминесцентной микроскопии оценивали прорастание спор *S. odorifer* 103.4, зафиксированных на стёклах и интродуцированных в почву с внесением различных концентраций As (от $3 \cdot 10^{-3}$ до $1 \cdot 10^{-1}$ моль/л). Интенсивность прорастания спор (доля проросших спор от числа внесённых в почву, %) зависела от концентрации ток-

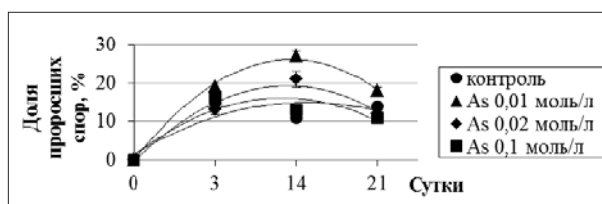


Рис. 5. Динамика интенсивности прорастания спор *Streptomyces odorifer* 103.4 при различных концентрациях мышьяка в почве.

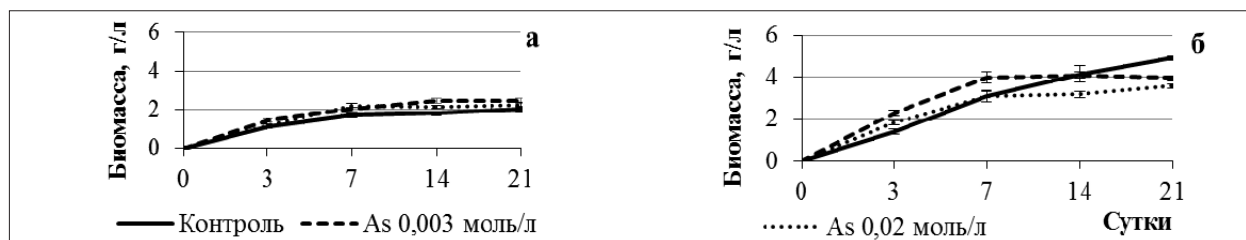


Рис. 6. Динамика накопления биомассы *Streptomyces wedmorensis* 38.11 (а) и *S. bottropensis* 140.4 (б) в градиенте концентраций мышьяка.

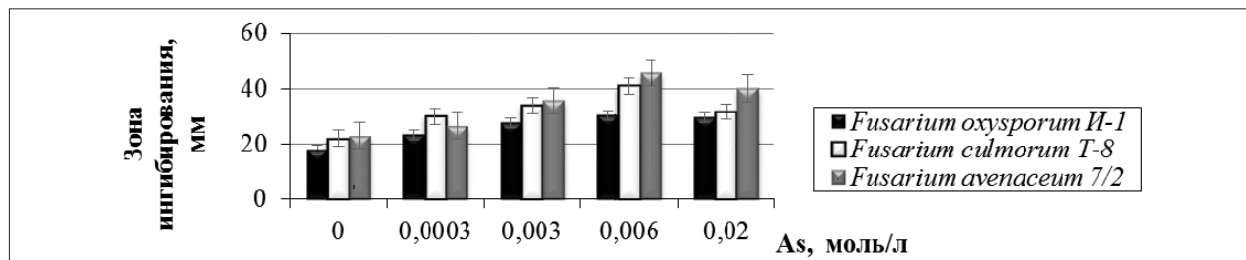


Рис. 7. Зоны угнетения роста грибов водорастворимыми метаболитами *Streptomyces wedmorensis* 38.11 в зависимости от концентрации мышьяка в культуральной среде.

сиканта. В малых концентрациях мышьяк способствовал увеличению интенсивности проростания спор, а в более высокой, напротив, ингибировал этот процесс по сравнению с контролем (рис. 5).

Стимулирующее влияние малой ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л As) концентрации мышьяка на споры прослеживалось на протяжении всего периода наблюдений, тогда как ингибирующее воздействие более высокой ($1 \cdot 10^{-1}$ моль/л As) концентрации достоверно проявилось лишь на заключительном этапе сукцессии – к 21 суткам.

В опыте по изучению накопления биомассы под действием мышьяка установили, что выделенный из импактной по мышьяку почвы штамм 38.11 характеризовался по сравнению со штаммом – 140.4, изолированным из фоновой почвы, большей устойчивостью к токсиканту (рис. 6). При этом действие мышьяка в высоких концентрациях (0,003–0,02 моль/л), как и в случае со спорами, ингибировало накопление биомассы стрептомицетом (рис. 6б).

В присутствии мышьяка менялась и антагонистическая активность стрептомицетных изолятов. Зоны ингибирования тест-культур водорастворимыми метаболитами штамма *S. wedmorensis* 38.11, выделенного из импактной почвы, увеличивались прямо пропорционально увеличению концентрации мышьяка в культуральной среде, на которой был выращен стрептомицет (рис. 7).

Увеличение антифунгальной активности, по сравнению с контролем, прослеживалось в градиенте концентраций мышьяка от $3 \cdot 10^{-4}$ до

$6 \cdot 10^{-3}$ моль/л, при более высокой концентрации ($2 \cdot 10^{-2}$ моль/л As) зоны ингибирования роста грибов существенно не отличались от тех, что имели место при $3 \cdot 10^{-3}$ моль/л As.

Таким образом, реакция природных изолятов стрептомицетов на мышьяк определялась концентрацией токсиканта, продолжительностью его воздействия, а также характером почвы, служившей источником выделения культуры.

Способность природных изолятов к синтезу биологически активных веществ. В ходе изучения структуры комплексов актиномицетов в верхних горизонтах почв вблизи ОХУХО «Марадыковский» в чистую культуру были изолированы более 100 штаммов стрептомицетов. Среди них были выделены культуры с антагонистической активностью в отношении грибных и бактериальных фитопатогенов. Наибольшее количество антагонистически активных штаммов обнаружено в почвах с повышенным содержанием мышьяка, а также в почвах пастбищ, отличающихся более высоким содержанием органического азота и углерода.

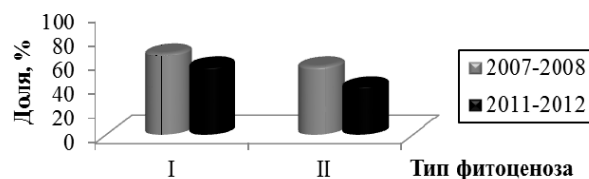


Рис. 8. Доля штаммов, обладающих целлюлозолитической активностью, от общего количества штаммов, выделенных в разные годы из почв луговых (I) и лесных (II) фитоценозов.

Более 50% стрептомицетов, выделенных из почв территории СЗЗ и ЗЗМ ОХУХО «Марадыковский», обладали целлюлозолитической активностью. При этом продуценты целлюлаз встречались как в почвах луговых, так и лесных фитоценозов, однако за шестилетний период производственной деятельности Объекта их доля от общего количества выделенных природных изолятов сократилась на 11 и 16% соответственно (рис. 8).

Заключение

Таким образом, изучение антагонистической и целлюлозолитической активности природных изолятов актиномицетов из почв, отобранных в СЗЗ и ЗЗМ объекта, показало, что почвенные стрептомицеты не утратили за период мониторинговых исследований свои функциональные свойства, что также косвенно свидетельствует в пользу их толерантности к загрязнению продуктами деструкции ХО и обосновывает целесообразность поиска, выявления и выделения среди них культур, пригодных для создания микробных биопрепаратов для ремедиации почв, импактных по мышьяку и фосфорсодержащим ксенобиотикам.

Литература

1. Конвенция о запрещении химического оружия. Проблемы ратификации // Химическое оружие и проблемы его уничтожения. 1996. № 2. С. 5–9.
2. Звягинцев Д. Г. Почва и микроорганизмы. М.: Изд-во МГУ, 1987. 256 с.
3. Гузеев В.С., С.В. Левин. Перспективы эколого-микробиологической экспертизы состояния почв при антропогенных воздействиях // Почвоведение. 1991. № 9. С. 50–62.
4. Schütze E., Kothe E. Heavy Metal-Resistant *Streptomyces* in Soil // In: Bio-Geo Interactions in Metal-Contaminated Soils // Soil Biology. 2012. V. 31. P. 163–182.
5. Ашихмина Т.Я., Товстик Е.В., Огородникова С.Ю., Домнина Е.А., Широких И.Г. Численность и разнообразие почвенных актиномицетов вблизи объекта по уничтожению химического оружия «Марадыковский» // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 4. С. 67–72.
6. Товстик Е.В., Огородникова С.Ю., Домнина Е.А., Широких И.Г. Динамика актиномицетных комплексов в почвах лесных фитоценозов вблизи объектов по уничтожению химического оружия «Марадыковский» // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 4. С. 92–98.
7. Практикум по биологии почв: Учеб. пособие / Зенова Г.М., Степанов А.Л., Лихачева А.А., Манучарова Н. А. М.: Издательство МГУ, 2002. 120 с.
8. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т./ Ред. Дж. Хоулт, Н. Криг, П.Снит, Дж. Стейли, С. С Уилльямс. М.: Мир, 1997. Т. 2. 800 с.
9. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.
10. Практикум по микробиологии / Под ред. А.И.Нетрусова. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 608 с.
11. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках: учебник. М.: Высш. шк, 1979. 455 с.
12. Teather R.M., Wood P.J. Use of congo-red polysaccharide interaction in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria the bovine rumen // Appl. Environ Microbiol. 1982. V. 43. P. 777–780.
13. Дмитриев. Е. А. Математическая статистика в почвоведении. М.: Изд-во МГУ, 1972. 292 с.
14. Кондакова Л.В., Огородникова С.Ю., Домрачева Л.И., Ашихмина Т.Я. Влияние метилфосфоновой кислоты на развитие водорослей в почве // Ботанический журнал. 2008. Т. 94. № 1. С. 42–48.
15. Ашихмина. Т.Я., Домрачева Л. И., Огородникова С. Ю., Олькова А. С., Кантор Г. Я., Кондакова Л. В. Изучение воздействия фосфорсодержащих поллютантов на почвенные микроорганизмы // Российский химический журнал. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). 2010. Т. LIV. Т. № 4. С. 183–186.

УДК 661.718.1:542.92:504.5

Исследование процессов трансформации фосфорсодержащих органических веществ в окружающей среде

© 2014. Е. В. Брызгалина, к.э.н., нач. отдела, В. Л. Рудь, к.х.н.,
Д. А. Зыгин, к.х.н., М. К. Беломытцев, ст. офицер,
Научно-исследовательский центр Федерального управления
по безопасному хранению и уничтожению химического оружия,
e-mail: fubhuho@mail.ru

В статье представлен материал о поведении в почве, воде ксенобиотических соединений фосфора – фосфонатов, производных фосфорсодержащих отравляющих веществ и пестицидов. Отмечено, что в данных соединениях наиболее прочной является связь P–C, в отличие от более лабильных связей O–P, P–S и P–N. При длительном нахождении фосфорорганических отравляющих веществ и фосфорорганических соединений в окружающей среде одним из наиболее устойчивых соединений, образующихся в процессе их трансформации, является метилфосфоновая кислота. Поэтому при обследовании территорий в районах хранения и уничтожения химического оружия, а также сельхозугодий, где применялись ранее фосфорсодержащие пестициды, необходимо в пробах почвы, воды, донных отложений и растительности определять метилфосфоновую кислоту как конечный продукт трансформации фосфорорганических отравляющих веществ и фосфорорганических соединений.

The paper presents the behavior of xenobiotic compounds of phosphorus, such as phosphonates, phosphorus toxic substances derivatives, and pesticides in soil and in water. It is stated that in these compounds the linking P–C is most strong, as compared with the linking O–P, P–S, and P–N. Methylphosphonic acid is one of the most stable compounds formed at transformation of organophosphorus agents and organophosphorus compounds during their long stay in the environment. Thus, examining the areas of chemical weapons storage and destruction, as well as examining the farmland, where phosphorus pesticides had been applied previously, it is necessary to determine methylphosphonic acid in samples of soil, water, sediment, and vegetation as this acid is the end product of organophosphorus agents and organophosphorus compounds transformation.

Ключевые слова: фосфорорганические соединения, фосфорсодержащие отравляющие вещества, трансформация, глифосат, метилфосфоновая кислота.

Keywords: organophosphorus compounds, phosphorus-containing toxic substances, transformation, glyphosate, methylphosphonic acid.

Одной из наиболее острых проблем экологической безопасности является деструкция органических ксенобиотических соединений фосфора – фосфонатов. К производным фосфонатов антропогенного происхождения относятся нервно-паралитические отравляющие вещества (ОВ) (ОВ типа Vx, зарин и зоман) [1] и фосфорсодержащие пестициды [2]. Фосфонаты являются классом фосфорорганических соединений (ФОС), характеризующиеся наличием химически стабильной фосфор-углеродной связи (P–C) в отличие от более лабильных O–P, P–S и P–N связей. Связь P–C крайне устойчива к химическому гидролизу, тепловому разрушению, термическому расщеплению, а также к фотолизу. Связь P–C встречается в широком ряду природных и антропогенных ФОС. Антропогенные фосфорорганические соединения являются основным источником загрязнения окружающей среды.

Одним из вероятных продуктов трансформации фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) и фосфорорганических соединений в воде (почве) может быть метилфосфоновая кислота (МФК) (рис.). Она является основой многих фосфорсодержащих пестицидов, применяемых в качестве гербицидов, дефолиантов, десикантов, инсектицидов, акарицидов, зооцидов и фунгицидов, а также является составной частью ОВ (зарина, зомана и ОВ типа Vx).

В настоящее время во всём мире для борьбы с сорняками широко применяются ФОС – универсальные средства для борьбы с большинством сорных растений – пестициды, в частности, водорастворимый твёрдый препарат «Раундап» (англ. – Roundup), его товарные аналоги: «Ураган», «Удар», «Торнадо», «Аккорд», «Родео», «Зеро», «Глифор», «Алаз», «Глисол». Действующий

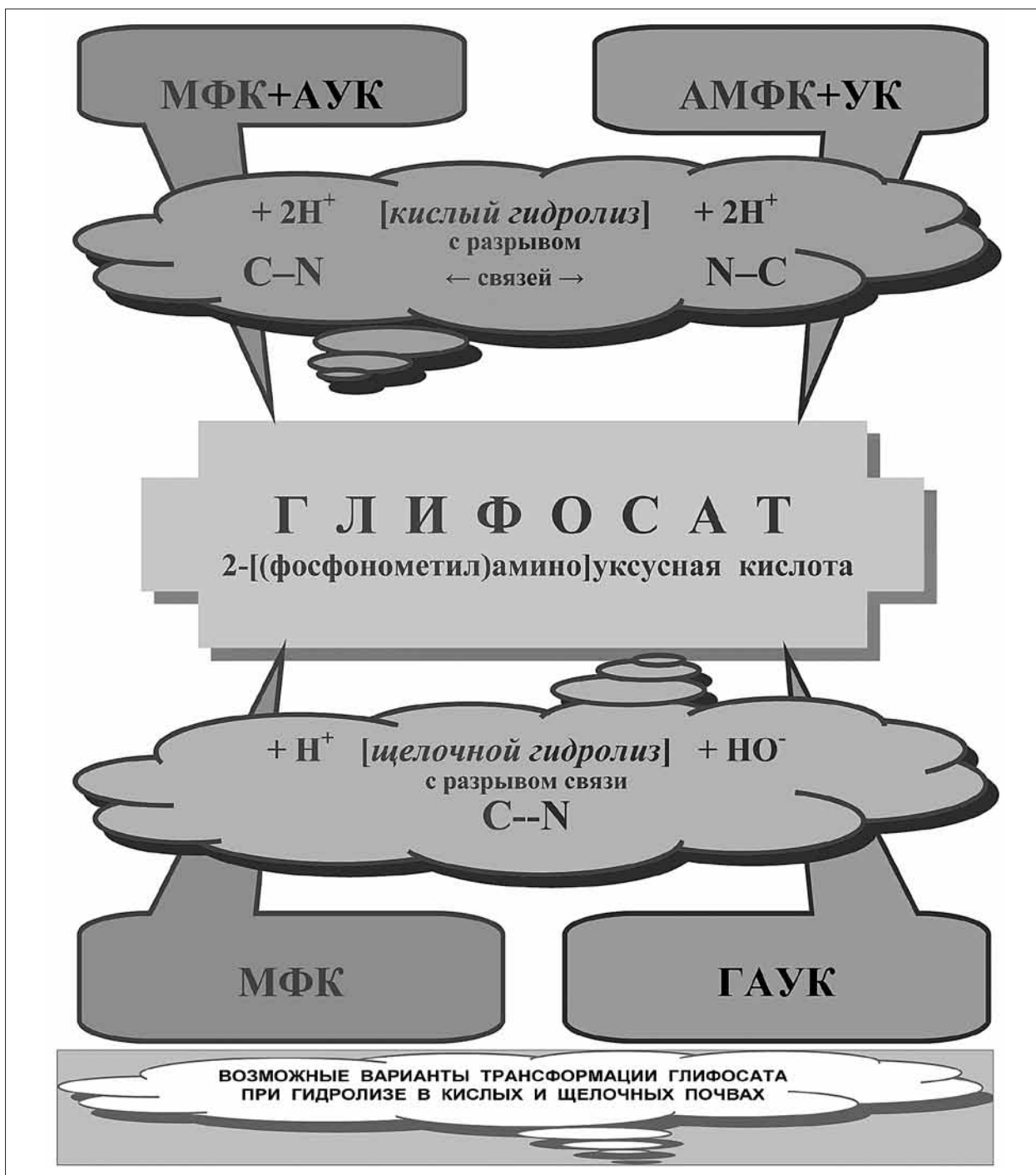


Рис. Схема трансформации фосфорсодержащих соединений в почве.

щим началом (активным веществом) всех этих препаратов является глифосат (брутто формула $C_3H_8NO_5P$): N-(фосфометил) глицин или иначе: 2-[(фосфометил)-амино]уксусная кислота. Глифосат является N-фосфометильным производным аминокислоты глицина (NH_2-CH_2-COOH) [3].

Литературные источники о стабильности глифосата в естественной среде и продуктах его деструкции изобилуют противоречивыми данными. В одних источниках, например, ука-

зывается, что препарат полностью разлагается в течение двух недель после обработки. В ряде наблюдений установлено, что сроки разложения глифосата и продуктов его распада в почве отличаются в зависимости от климата и химического состава почвы от 55 дней до 3 лет и более. По другим научным данным, глифосат, входящий в состав гербицида «Раундап», не только не разрушается в почве, но и может накапливаться в растениях, особенно в генетически модифицированных сортах, устойчивых к нему. По-

Примечание:

Формула	Полное и сокращенное название соединения
$ \begin{array}{c} \text{HO} \quad \text{O} \quad \text{H} \quad \text{H} \quad \text{H} \quad \text{O} \\ \diagdown \quad \parallel \quad \quad \quad \quad \diagup \\ \text{P} - \text{C} - \text{N} - \text{C} - \text{C} \\ \diagup \quad \quad \quad \quad \diagdown \\ \text{HO} \quad \text{H} \quad \text{H} \quad \text{H} \quad \text{OH} \end{array} $	2-[(фосфонометил)амино] уксусная кислота (глифосат)
$ \begin{array}{c} \text{HO} \quad \text{O} \\ \diagdown \quad \parallel \\ \text{P} - \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{HO} \end{array} $	метилфосфоновая кислота (МФК)
$ \begin{array}{c} \text{HO} \quad \text{O} \\ \diagdown \quad \parallel \\ \text{P} - \text{CH}_2\text{NH}_2 \\ \diagup \\ \text{HO} \end{array} $	аминометилфосфоновая кислота (АМФК)
$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HO} - \text{NHCH}_2 - \text{C} \\ \diagdown \\ \text{OH} \end{array} $	гидроаминоуксусная кислота (ГАУК)
$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{NH}_2\text{CH}_2 - \text{C} \\ \diagdown \\ \text{OH} \end{array} $	аминоуксусная кислота (АУК)
$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3 - \text{C} \\ \diagdown \\ \text{OH} \end{array} $	уксусная кислота (УК)

падая в организм человека, глифосат, являясь сильным канцерогеном, может спровоцировать онкологические заболевания. Однозначно доказано, что стойкость глифосата в воде ниже, чем в почве. Глифосат способен мигрировать в почве. Его присутствие регистрировалось на расстоянии до 800 метров от места внесения. Следовательно, под воздействие препарата могут попадать территории, не предусмотренные к обработке. Этот гербицид был обнаружен в водных источниках после его применения в сельском, городском и лесном хозяйстве [3].

При длительном нахождении глифосата в естественных условиях (в почве, воде) в первую очередь деструкция его молекул будет осуществляться по разрыву химических связей С–N и N–С с образованием ряда продуктов, в том числе, и метилфосфоновой кислоты.

При комплексном обследовании территории объектов по хранению и уничтожению

химического оружия в пробах почвы, воды, донных отложений при количественном химическом анализе, в первую очередь, необходимо определить МФК как конечный продукт трансформации ФОВ [4].

Литература

1. Александров В.Н., Емельянов В.И. Отравляющие вещества. М.: Воениздат, 1990. 271 с.
2. Мельников Н.Н. Пестициды. Химия, технология и применение. М.: «Химия», 1987. 712 с.
3. Кузнецова Е.М., Чмиль В.Д. Глифосат: поведение в окружающей среде и уровни остатков // Современные проблемы токсикологии. 2010. № 1. С. 87.
4. Капашин В.П., Пункевич Б.С., Элькин Г.И. Метрологическое обеспечение уничтожения химического оружия – основа безопасности химического разоружения в Российской Федерации. М.: ФУБХУХО, 2010. С. 44.

**Лихеноиндикация состояния атмосферного воздуха
на химически опасных техногенных объектах**

© 2014. Л. Н. Анищенко¹, д.с.-х.н., профессор, И. А. Балясников², к.с.-х.н., директор,
Т. А. Рудакова, зав. лабораторией,

¹Брянский государственный университет им. акад. И. Г. Петровского,

²Региональный центр государственного экологического
контроля и мониторинга по Брянской области,
e-mail: eco_egf@mail.ru, rcgekim32@gmail.com

Блок биомониторинга на химически опасных техногенных объектах должен включать разнообразные модификации метода биоиндикации, наиболее апробированный из них и широко применяемый в Нечерноземье России – лихеноиндикационный. При рекогносцировочных исследованиях определён фоновый видовой состав лихеноиндикаторов для Нечерноземья России, обобщены их экологические характеристики. Для биодиагностики общего состояния воздуха в районе химически опасного техногенного объекта использованы три количественных лихеноиндикационных синтетических индекса, выявлен наиболее информативный из них, построены лихеноиндикационные карты. Биоиндикационные исследования подтверждены приборными экоаналитическими изысканиями. Результаты пятилетнего лихеномониторинга в системе экологического контроля на объекте по утилизации химического оружия в Брянской области показали относительно благоприятное состояние атмосферного воздуха, соответствующее фоновому (условной норме).

Block biomonitoring chemically dangerous technogenic objects should include various modifications of the method of bioindication, most approved of them and widely used in the regions of Russia – lichenology. During reconnaissance studies defined background species composition of lichenometric for Non-Chernozem zone of Russia, summarized their environmental performance. For biodiagnostic the General condition of the air in the area of chemically hazardous man-made object used three quantitative mapped synthetic index, identified the most informative of them built mapped cards. Biological studies confirmed the instrument of eco-analytical research. The results of the five-year lichen indicators in the environmental management system at the facility for disposal of chemical weapons in the Bryansk region showed relatively good air quality, relevant background (conditional norm).

Ключевые слова: лихеномониторинг, лихеноиндикаторы, импактный мониторинг, объект по утилизации химического оружия, Брянская область.

Keywords: monitoring with lichens, lichen indicators, monitoring of technogenic pollution, a facility for the disposal of chemical weapons, Bryansk region.

Система мониторинга химически опасных техногенных объектов включает несколько взаимосвязанных блоков, в том числе и биологический мониторинг. В обобщённых работах по созданию экологического контроля и организации экоаналитического мониторинга подчёркивается необходимость ведения биологических наблюдений и использования количественных методик оценки, выявления биоиндикаторов и биомониторов [1–3]. Поиск биоиндикаторов и биомониторов для диагностики состояния сред обитания в районе химически опасных техногенных объектов – актуальная задача при организации экомониторинга, так как индикаторная значимость географически различается, разнообразие индикаторов и показательные признаки, чувствительность требует масштабных иссле-

дований. Биологический контроль состояния наиболее уязвимой по химическому загрязнению среды – атмосферы – в различных регионах осуществляется с помощью метода лихеноиндикации [4]. В основном используются качественные методики, диагностируются общие биоиндикационные признаки. Расширение применения количественных методик, поиск региональных индикаторов – актуальные задачи современного биомониторинга на химически опасных техногенных объектах. В связи с вышеизложенным, основная цель работы – выявить надёжные лихеноиндикационные признаки для биодиагностики биомониторинга общего состояния атмосферного воздуха объекта по утилизации химического оружия (объект 1204, Почепский район, Брянская область).

Лишеноиндикационные исследования проводились на химически опасном техногенном объекте по утилизации химического оружия (Брянская область, Почепский район) с 2009 г. по настоящее время. Блок биомониторинговых работ включал подготовительный этап для установления видового состава наиболее чувствительной к атмосферному загрязнению эпифитной лишенофлоры, определения фоновых видов методом трансект на реперных точках. В дальнейшем рабочие лишеноиндикационные исследования проводились методом пробных (учётных) площадок. На определённых для работы реперных точках выбраны учётные площадки, включающие по 20 модельных деревьев (форофитов) приблизительно одного возраста. На каждом из них закладывались по 4 пробные площадки и обследование проводилось по стандартным в лишеноиндикации методикам [4, 5]. На основании данных геоботанических описаний эпифитных лишеноидовых синузид вычислялись лишеноиндикационные индексы:

индекс относительной чистоты атмосферы (ОЧА), $OЧА = (H + 2Л + 3К) / 30$, где H – балл покрытия накипных лишеноидов; Л – балл покрытия листоватых лишеноидов; К – балл покрытия кустистых лишеноидов. Чем выше показатель ОЧА, тем чище воздух местообитания [4].

Индекс полеотолерантности (ИП) – по Х. Х. Трассу [4]:

$ИП = \sum a_i c_i / C_{ин}$, где a_i – индивидуальный коэффициент полеотолерантности для лишеноидов; c_i – проективное покрытие вида в баллах; $C_{ин}$ – суммарное покрытие видов лишеноидов в баллах. Индикаторная информативность лишеноидов изучена ранее методом непрямой линейной ординации, которая применялась Л. Мартином, Х. Х. Трассом для оценки коэффициентов полеотолерантности лишеноидов [6, 7].

Индекс атмосферной чистоты (ИАЧ) для фоновых видов лишеноидов *Hypogymnia physodes*, *Xanthoria parietina* [8]:

$$ИАЧ = \sum_{i=1}^n \frac{Q_i \times f_i}{10}$$

где Q_i – индекс токсифобности, т. е. число видов, сопутствующих данному виду на всех площадках описания в гомогенном по степени загрязнённости местообитания; f_i – значения покрытия вида по 5-балльной шкале: 1 балл – очень редко, с очень низким покрытием; 2 – редко или с низким покрытием; 3 – редко и со средним покрытием и на некоторых стволах; 4 – часто или с высоким покрытием на некото-

рых стволах; 5 – очень часто и с очень высоким покрытием на большинстве стволов. Значения покрытия видов лишеноидов указаны по работе Н. С. Голубковой, Н. В. Малышевой [9].

Спектр значений лишеноиндикационных индексов позволил определить наиболее информативный, рекомендуемый в дальнейшем для определения зон по состоянию атмосферного воздуха опасных техногенных объектов. Названия видов лишеноидов приведены согласно Списку лишенофлоры России [10].

Параллельно биомониторинговым исследованиям осуществлялись экоаналитические работы по выявлению состава атмосферного воздуха по содержанию общепромышленных загрязнителей: использовался газоанализатор ГАНК-4, предназначенный для автоматического непрерывного контроля концентраций вредных веществ в атмосферном воздухе (табл. 2). Прибор зарегистрирован в Госреестре № 24421–09, свидетельство RU.C.31.076.A № 36646, сертификат соответствия РОСС RU.ME20.В006059 № 7888645.

Наиболее распространёнными (фоновыми) видами в биотопах исследуемой территории являются: *Xanthoria parietina*, *Parmeliopsis ambigua*, *Physcia stellaris*, *Lecanora allophana*, *Hypogymnia physodes*, спорадически встречаются – *Cladonia fimbriata*, *C. carneola*, *Evernia mesomorpha*, *Physcia aipolia*, *P. stellaris*, *P. acetabulum*, *Parmelia sulcata*, *Imshaugia aleurites*.

Видовой состав лишеноидов на учётных пробных площадках реперных точек представлен в таблице 1.

На реперных точках обнаружены и используются в мониторинге общего состояния атмосферы 57 видов эпифитной лишенофлоры. Преобладают виды лишеноидов листоватой жизненной формы.

Число родов лишенофлоры – 31, ведущие по числу видов семейства: *Parmeliaceae* (16), *Lecanoraceae* (9), *Physciaceae* (10 видов), *Teloschistaceae* (7). Доминируют по числу видов роды *Lecanora* (6 видов), *Physcia* (5). Эпифитная лишенофлора, учитываемая в индикации, имеет фоновые виды – *Xanthoria parietina*, *Parmelia sulcata*, *Parmeliopsis ambigua*, *Physcia pulverulenta*, *Ph. ciliata*, *Ph. tenella*, *Ph. stellaris*, *Physconia distorta*, *Phaeophyscia ciliata*, *Candelariella vitellina*. Лишеноиды рода *Cladonia* найдены в нижних частях стволов деревьев или как факультативные геоплезные виды. Наиболее часто встречаемые (фоновые) виды в местообитаниях принадлежат к экологической группе нитрофитов: *Caloplaca cerina*, *C. holocarpa*, *Lecanora hagenii*, *Phaeophyscia*

МОНИТОРИНГ ОБЪЕКТОВ ПО УНИЧТОЖЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ

Таблица 1

Биоразнообразие и экологическая характеристика эпифитной лишенофлоры реперных точек

Виды	Встречаемость* на точках									КП**	рН/N***
	1,2	5	6	19	27	74	29,30	49,50	68		
<i>Arthonia atra</i> (Pers.) A. Schneid.	3	3	4	4	3	4	4	3	4	9	5/3
<i>Biatora helvola</i> Körb. ex Hellb.	3	3	3	3	3	3	3	3	3	7	5/1
<i>Caloplaca cerina</i> (Ehrh. ex Hedwig) Th. Fr.	3	3	3	3	3	3	3	3	3	8	7/5
<i>C. decipiens</i> (Arn.) Blomb & Forssell	3	3	3	3	3	3	3	3	3	8	9/8
<i>C. holocarpa</i> (Hoffm. ex Ach.) Wade	2	2	2	2	2	2	2	2	2	6	8/5
<i>Candelariella efflorescens</i> R.C. Harris & W.R. Buck	2	2	3	3	2	3	3	2	3	7	6/5
<i>C. vitellina</i> (Hoffm.) Müll. Arg.	3	3	3	3	3	3	3	3	3	9	5/5
<i>C. xanthostigma</i> (Ach.) Lettau	3	3	3	3	3	3	3	3	3	9	5/4
<i>Cladonia cenotea</i> (Ach.) Schaer.	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3	2/1
<i>C. coniocraea</i> (Flörke) Spreng.	5	5	-	-	5	-	-	5	-	5	4/2
<i>C. fimbriata</i> (L.) Fr.	5	5	-	-	5	-	-	5	-	5	4/1
<i>Evernia mesomorpha</i> Nyl.	5	5	-	-	5	4	4	5	-	3	
<i>E. prunastri</i> (L.) Ach.	3	3	2	2	2	3	3	2	2	4	3/3
<i>Flavoparmelia caperata</i> (L.) Hale.	5	-	4	4	-	-	-	-	-	9	4/3
<i>Graphiscripta</i> (L.) Ach.	2	2	3	2	2	2	3	2	2	6	5/3
<i>Hypogymnia physodes</i> (L.) Nyl.	1	2	1	1	1	2	1	1	1	3	3/2
<i>H. tubulosa</i> (Schaer.) Hav.	3	4	3	3	2	3	4	4	3	7	3/3
<i>Lecanora allophana</i> Nyl.	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3	6/4
<i>Lecanoracarpinea</i> (L.) Vain.	3	3	3	3	3	3	3	3	3	6	5/3
<i>L. hagenii</i> (Ach.) Ach.	4	3	3	3	3	3	2	2	2	9	8/6
<i>Lecanora dispersa</i> (Pers.) Sommerf.	3	3	3	3	3	3	3	3	3	6	8/6
<i>L. symmicta</i> (Ach.) Ach.	2	2	2	2	2	2	2	2	2	5	5/4
<i>Lecanora varia</i> (Hoffm.) Ach.	2	2	2	2	2	2	2	2	2	7	3/3
<i>Lecidea erythrophaea</i> Flörke ex Sommerf.	3	3	3	3	3	3	3	3	3	7	5/2
<i>Lecidella elaeochroma</i> (Ach.) M. Choisy	3	3	3	3	3	3	3	3	3	7	6/4
<i>L. euphorea</i> (Flörke) Hertel	3	3	3	3	3	3	3	3	3	7	
<i>Lepraria incana</i> (L.) Ach.	4	4	5	5	4	5	5	4	5	8	3/3
<i>Melanelixia fuliginosa</i> (Fr. ex Duby) O. Blanco et al.	4	4	-	-	4	-	-	4	-	6	4/3
<i>Melanohalea olivacea</i> (L.) O. Blanco et al.	4	4	3	3	4	3	2	3	3	6	2/3
<i>M. subargentifera</i> (Nyl.) O. Blanco et al.	5	5	5	5	5	5	5	5	5	6	7/6
<i>Parmelia sulcata</i> Taylor	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5	5/4
<i>Parmeliopsis ambigua</i> (Wulf.) Nyl.	2	3	4	4	3	3	3	3	3	8	2/2
<i>P. hyperopta</i> (Ach.) Arnold	5	5	5	5	5	5	5	5	5	6	2/2
<i>Pertusaria albescens</i> (Hudson) M. Choisy & Werner	4	4	4	4	4	4	4	4	4	7	6/4
<i>P. pertusa</i> (Weigel) Tuck.	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5/3
<i>Phaeophyscia ciliata</i> (Hoffm.) Moberg	2	2	2	2	2	2	2	2	2	7	5/4
<i>Ph. orbicularis</i> (Neck.) Moberg	1	1	1	1	1	1	1	1	1	8	7/7
<i>Phlyctis argena</i> (Spreng.) Flot.	5	5			5			5		8	5/3
<i>Physcia adscendens</i> (Fr.) H. Oliver	2	2	2	2	2	2	2	2	2	8	7/6
<i>Ph. aipolia</i> (Ehrh. ex Humb.) Fűrnr.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5	7/5
<i>Ph. caesia</i> (Hoffm.) Fűrnr.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	8	8/8
<i>Ph. stellaris</i> (Ach.) Nyl.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5	6/5
<i>Ph. tenella</i> (Scop.) DC.	3	3	3	3	3	3	3	3	3	7	6/6
<i>Physconia enteroxantha</i> (Nyl.) Poelt	3	3	3	3	3	3	3	3	3	7	6/5
<i>Ph. distorta</i> (With.) J. R. Laundon	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	7/6
<i>Ph. grisea</i> (Lam.) Poelt	2	2	2	2	2	2	2	2	2	8	7/7
<i>Platismatia glauca</i> (L.) W. L. Culb & C. F. Culb.	5	5	-	-	5	-	-	5	-	4	2/2
<i>Pseudeveria furfuracea</i> (L.) Zopf	3	4	4	5	4	4	3	3	3	3	2/1
<i>Ramalina fraxinea</i> (L.) Ach.	4	4	-	-	-	5	4	-	-	5	5/3
<i>Rusavskia elegans</i> (Link) S.Y.Kondr.	4	5	-	-	-	-	-	-	5	10	8/7
<i>Scoliosporum chlorococcum</i> (Graewe ex Stenh.) Vezda	3	3	3	3	3	3	3	3	3	9	3/5

Виды	Встречаемость* на точках									КП**	рН/Н***
	1,2	5	6	19	27	74	29,30	49,50	68		
<i>Tuckermannopsis chlorophylla</i> (Willd. in numb.) Hale	1	2	2	2	3	3	2	2	2	3	2/1
<i>Vulpicida pinastri</i> (Scop.) J.-E. Mattsson & M. J. Lai	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2/1
<i>Usnea hirta</i> (L.) Weber ex F.U. Wigg.	2	3	3	3	2	2	3	3	3	4	3/2
<i>Xanthoria candelaria</i> (L.) Th. Fr.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	6	3/7
<i>X. parietina</i> (L.) Th. Fr.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	8	7/6
<i>X. polycarpa</i> (Hoffm.) Th. Fr. ex Rieber	1	1	2	2	1	2	2	1	2	8	6/6

Примечание.

* Встречаемость: 1 – более чем в 75% учётных квадратов – пробных площадок (широко распространённые, фоновые); 2 – встречаемость в 50 до 74% учётных квадратов; 3 – встречаемость в 25-49% учётных квадратов; 4 – встречаемость менее чем в 24% учётных квадратов; 5 – встречаемость менее чем в 5% учётных квадратов.

** КП – коэффициенты полевотолерантности.

*** Шкала кислотности субстрата (рН): 1 – субстрат экстремально кислый и очень кислый, рН<4,0; 2 – очень кислый субстрат, рН 3,4-4,0; 3 – субстрат довольно кислый, рН 4,1-4,8; 4 – между 3-5; 5 – субстрат умеренно кислый, рН 4,9-5,6; 6 – между 5 и 7; 7 – субстрат полунейтральный, рН 5,7-6,5; 8 – нейтральный субстрат, рН 6,6-7,5; 9 – субстрат нейтральный или слабощелочной, рН>7,0 [11].

Шкала отношения вида к богатству субстрата элементами питания (N): 1 – очень бедная минеральными элементами (Mg, Ca, K, Na, N) кора деревьев как у ели, лиственницы, берёзы; 2 – между 1 и 3; 3 – умеренно богатая минеральными элементами кора деревьев с очень малой эвтрофикацией; 4 – между 3 и 5; 5 – кора богата минеральными элементами или умеренно покрыта пылью; 6 – между 5 и 7; 7 – богатая минеральными элементами кора, часто покрыта густым слоем пыли [11].

Жирным шрифтом в таблице выделены нитрофильные виды лишайников.

orbicularis, *Physcia adscendens*, *Ph. stellaris*, *Xanthoria parietina* и др.

Основные синузиды, формирующиеся на средней части ствола форофитов (от 0,6 до 2,0 м), представлены *Xanthoria parietina* (проективное покрытие от 20 до 70%), *Parmelia sulcata* и *Parmeliopsis ambigua* (проективное покрытие от 5 до 70%), *Physcia stellaris* (проективное покрытие от 10 до 40%), *Physconia distorta* (проективное покрытие от 15 до 35%). Наиболее разнообразны эпифитные лишеносинузиды на *Betula pendula*, *Populus alba*, *Quercus robur*. В составе лишайниковых группировок представлены и дифференцирующие виды: на коре сосны обыкновенной в основном *Lepraria incana*, ели европейской – *Xanthoria candelaria* и *Xanthoria parietina*, дуба черешчатого – *Evernia prunastri*, тополя дрожащего – *Caloplaca cerina*, рябины обыкновенной – *Caloplaca cerina* и *Graphis scripta*. Примечательно, что лишеносинузиды сформированы с участием нитрофильных видов – *Xanthoria parietina*, *Physcia stellaris*, *Physconia distorta*, *Phaeophyscia ciliata*, которые могут характеризовать степень антропогенного изменения экологических условий в сообществах, использоваться как биоиндикаторы.

Общее проективное покрытие лишайников на реперных точках за три года исследований изменялось незначительно (изменения статистически недостоверны). Результаты анализа проективного покрытия различных жизненных форм лишайников на деревьях (форофитах)

показали преобладание листоватой жизненной формы, наименьшее проективное покрытие – у кустистых и накипных жизненных форм. Наименьшее проективное покрытие кустистых лишайников на точке 68, накипных – на точке 5. Наибольшее проективное покрытие кустистых лишайников на точке 6. Наибольшая динамика проективного покрытия зарегистрирована для накипных лишайников, однако значения (в баллах) проективного покрытия не изменялись (2-3 балла).

Вероятно, изменение общего проективного покрытия лишайников на реперных точках вызвано изменением светового режима из-за естественного отпада нижних ветвей древесных видов.

Индекс общей чистоты атмосферы (ОЧА), рассчитанный с использованием балльных оценок проективного покрытия всех групп лишайников на стволах модельных видов, характеризует благоприятное состояние атмосферы на пробных площадках и в точках исследований. Интервал ОЧА – от 0,53 балла до 0,66.

Расчёт синтетических индексов – ИП и ИАЧ – показал, что состояние атмосферы на обследованных реперных точках благоприятное (табл. 1). Таким образом, значения ИП изменялось от 1,86 до 4,12, значит, на обследованной территории зарегистрированы благоприятная (от 1,8 до 2,79) и смешанная зоны (ИП от 2,8 до 4,5).

Показатели ИАЧ менее информативны. Они позволили установить наличие нормаль-



Рис. 1. Карта-схема зон, выделяемых на основании значений ИП, показывающее состояние атмосферного воздуха на мониторинговых реперных точках объекта

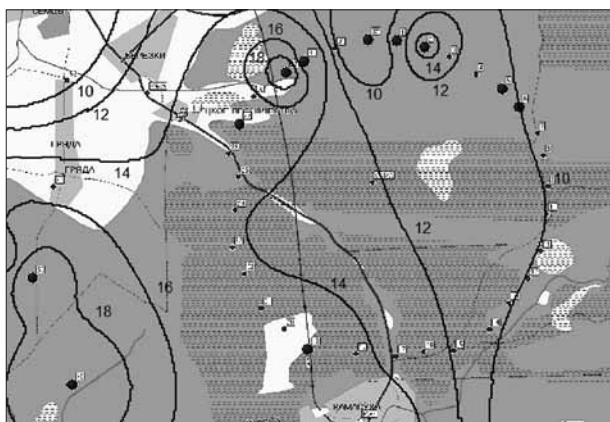


Рис. 2. Карта-схема зон, выделяемых на основании значений ИАЧ, показывающее состояние атмосферного воздуха на мониторинговых реперных точках объекта

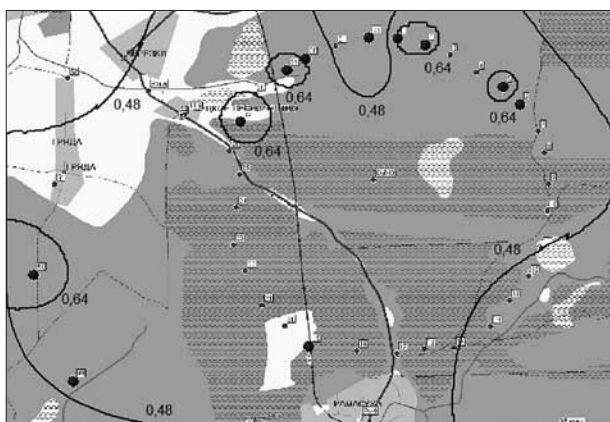


Рис. 3. Карта-схема зон, выделяемых на основании значений ОЧА, показывающее состояние атмосферного воздуха на мониторинговых реперных точках объекта

Таблица 2

Показатели химического состава воздуха обследованных реперных точек

Реперная точка	Вещество			
	CO	SO ₂	NO	NO ₂
Фактическая концентрация, мг/м ³				
1	0,912	0,0076	0,0069	0,0027
2	0,991	0,0088	0,0064	0,003
5	0,987	0,009	0,007	0,003
6	0,948	0,0062	0,0157	0,0097
30	0,93	0,001	0,009	0,003
50	0,905	0,0007	0,0068	0,0059
19	1,10	0,0006	0,01	0,011
27	0,993	0,0083	0,0059	0,0031
74	0,93	0,001	0,0069	0,0031
29	0,91	0,001	0,0088	0,003
49	0,947	0,009	0,012	0,010
68	0,940	0,0009	0,009	0,006
ПДК (атм. воздух), мг/м ³				
	5,0	0,5	0,4	0,2

ной зоны по общему состоянию атмосферы. Эти показатели не изменялись за три года исследований.

Зоны по состоянию атмосферного воздуха на реперных точках отражены на рисунках 1–3.

Показатели содержания в воздухе основных загрязнителей на пробных площадках реперных точек указаны в таблице 2.

Таким образом, измеренные концентрации общепромышленных загрязнителей во всех точках фиксировались менее нижнего предела определения. Это в целом соответствует показателям ИП и ИАЧ по общему состоянию атмосферного воздуха. Поэтому оценка общего состояния атмосферы реперных точек методом лишеноиндикации показала благоприятное общее состояние атмосферы (условно фоновое) в импактном мониторинге. Все используемые для лишеноиндикации эпифитные виды – хорошие индикаторы и рекомендованы к использованию для биодиагностических мероприятий района химически опасных техногенных объектов.

Литература

1. Ашихмина Т.Я. Комплексный экологический мониторинг объектов хранения и уничтожения химического оружия. Киров: Вятка, 2002. 544 с.
2. Биоиндикаторы и биотестсистемы в оценке окружающей среды техногенных территорий / Под общ. ред. Т. Я. Ашихминой и Н. М. Алалыкиной. Киров: О-Краткое, 2008. 336 с.
3. Анищенко Л.Н., Балясников И.А., Рудакова Т.А. Блок биомониторинга в экоаналитическом контроле химически опасных техногенных систем (на примере

объекта по утилизации химического оружия 1204, Брянская область) // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 3. – С. 40–46.

4. Бязров Л.Г. Лишайники в экологическом мониторинге. М.: Научный мир, 2002. 336 с.

5. Трасс Х.Х. Анализ лишенофлоры Эстонии: Автореф. дис.... докт. биол. наук. Л.: БИН АН СССР, 1968. 80 с.

6. Анищенко Л.Н. Бриоиндикация общего состояния атмосферы городской экосистемы (на примере г. Брянска) // Экология. 2009. № 4. С. 264–270.

7. Мартин Л., Трасс Х. Лишеноиндикационное картирование г. Таллина // Лишеноиндикация состояния

окружающей среды. Мат. Всесоюзн. конф. 3-5 окт. 1978. Таллин. 1978. С. 134–139.

8. De Sloover J., Le Blanc F. Mapping of atmospheric pollution on the basis of lichen sensitivity // Proc. Symp. Recent Advances in Tropical Ecology / Ed. by R. Misra. Varansi. R. Misra, B. Gopaletal. 1968. P. 42–56.

9. Голубкова Н.С., Малышева Н.В. Влияние роста города на лишайники и лишеноиндикация атмосферных загрязнений г. Казани // Бот. журн. 1978. Т. 63. № 8. С. 1145–1154.

10. Список лишенофлоры России. СПб. 2010. 194 с.

11. Wirth V. Zeigewerte von Flechten // Scripta Geobotanica. 1991. Bd.18. – S. 215–237.

Некоторые вопросы, связанные с идентификацией фосфорорганических отравляющих веществ при уничтожении боеприпасов сложной конструкции

© 2014. Д. А. Зыгин¹, к.х.н., Ю. А. Егорова², к.т.н., н.с., М. А. Гольшев¹, с.н.с.,

¹Научно-исследовательский центр Федерального управления по безопасному хранению и уничтожению химического оружия,

²Филиал ФБУ «Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического оружия при Министерстве промышленности и торговли Российской Федерации (войсковая часть 70855)» – 1206 объект по хранению и уничтожению химического оружия, пос. Леонидовка Пензенской области
e-mail: fubhuho@mail.ru

Важным аспектом химико-аналитического контроля фосфорорганических отравляющих веществ при уничтожении боеприпасов сложной конструкции (БСК) на объектах уничтожения химического оружия является их идентификация. Особенностью БСК является то, что они снаряжены как отравляющим веществом (ОВ) зоманом или ОВ типа Vx, так и взрывчатыми веществами. Процесс уничтожения БСК полностью автоматизирован. Отбор пробы отравляющего вещества из корпуса БСК до его расснаряжения технологически не предусмотрен, из-за чего идентификация непосредственно по исходному веществу невозможна. В связи с этим разработан способ идентификации зомана по продуктам его деструкции (O-пинаколилметилфосфоната и фторгидратамоноэтаноламина), являющихся наиболее стабильными компонентами при определении методом газовой хроматографии, что обеспечивает возможность их использования в качестве основных химических маркеров при совместном присутствии в реакционных массах. Наряду с этим предлагается методический подход к идентификации зомана по продуктам его деструкции применить к уничтожению БСК в снаряжении отравляющим веществом типа Vx, с учётом особенностей протекания реакции детоксикации данного отравляющего вещества.

Identification of organophosphorus agents is an important aspect of chemical-analytical control during the complex design ammunition (CDA) destruction at the chemical weapons destruction plants. CDA characteristic feature is that they contain both a poison substance (PS) soman or PS of Vx-type, and explosives. CDA destruction process is fully automated. Sampling poison from the SDA body before its disassembling SBR is not provided technologically, thus the original substance identification is impossible. So a method of soman identifying is worked out based on its degradation products (o-pinacolmethylphosphonate and hydrofluoridemonoethanolamine), which are the most stable components, according to gas chromatography, which allows to use them as the main chemical markers if the both abovementioned substances are present in reaction masses. It is offered to use a methodological approach to soman identification according to its degradation products apply to the decommission during CDA destruction with Vx-type poison, taking into account the peculiarities of detoxification of this poison substance.

Ключевые слова: идентификация зарина и Vx, боеприпасы сложной конструкции, продукты деструкции, химические маркеры.

Keywords: sarin and Vx identification, complex design ammunition degradation products, chemical markers.

Согласно положениям «Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении» (Конвенция) деятельность объектов по уничтожению химического оружия (ХО) подвергается систематическим проверкам со стороны инспекционной группы Международной организации по запрещению химического оружия (ОЗХО), целью которых является получение объективной информации

о количестве уничтоженных запасов ХО и подтверждения факта его уничтожения.

В соответствии с пунктом 12 части IV А Приложения по проверке в рамках процедур Конвенции деятельность по уничтожению ХО без обеспечения возможности её проверки инспекционной группой ОЗХО не допускается [1]. Инспекционная деятельность ОЗХО на объектах по уничтожению ХО включает в себя наблюдение и контроль процедуры

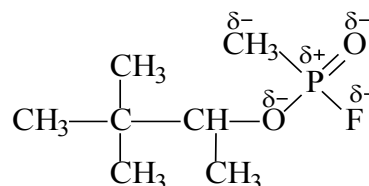
идентификации ОВ, по анализу проб исходного ОВ непосредственно из боеприпасов с последующим проведением хромато-масс-спектрометрического анализа отобранной пробы и её определение по существующим библиотекам масс-спектров [2].

В настоящее время на объекте по уничтожению ХО «Леонидовка» (Пензенская область) осуществляется уничтожение химических боеприпасов сложной конструкции (БСК) в снаряжении фосфорорганическим отравляющим веществом (ФОВ) зоманом. Особенностью БСК является то, что они снаряжены как ОВ, так и взрывчатыми веществами. Промышленное уничтожение БСК проводится впервые в мире и при разработке технологии их уничтожения был решён ряд уникальных прикладных задач, необходимых для выполнения обязательных процедур проверки по Конвенции.

Процесс уничтожения БСК полностью автоматизирован для обеспечения максимальной безопасности и исключения возможности несанкционированного (случайного) аварийного подрыва. Отбор пробы ОВ из корпуса БСК как до его расснаряжения, так и в процессе расснаряжения технологически не предусмотрен, из-за чего идентификация непосредственно по исходному веществу невозможна. В условиях данного технологического процесса подтвердить тип ОВ можно только в реакционной массе (РМ), полученной после расснаряжения боеприпаса и детоксикации ОВ [3]. В связи с этим был разработан способ идентификации зомана по продуктам его деструкции, исключающий операцию предварительного отбора пробы из корпуса боеприпаса, заключающийся в определении наличия кислых эфиров метилфосфоновой кислоты (МФК) в продуктах разложения указанного отравляющего вещества водным раствором моноэтаноламина (МЭА).

Для достижения данной цели был проведён анализ соединений, получающихся в результате детоксикации зомана 80%-ным водным раствором моноэтаноламина, образование которых, в свою очередь, определяется реакционной способностью указанного ОВ [4].

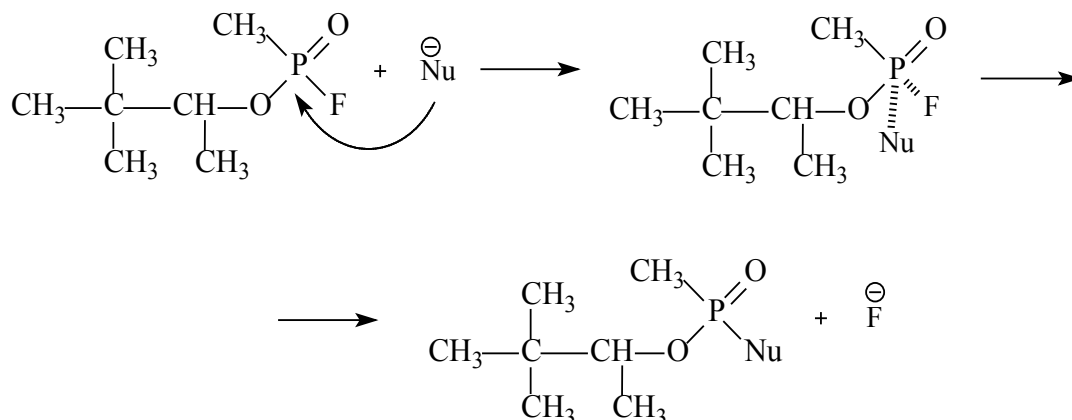
Поскольку зоман является типичным представителем галоидангидридов производных алкилфосфоновых кислот, реакционная способность данного вещества в первую очередь определяется распределением электронной плотности в его молекуле [5], представленным на схеме:



Присутствие частичного положительного заряда атома фосфора является следствием комплексного и одновременного воздействия индуктивных и мезомерных эффектов атомов кислорода (связи P=O), эфирного кислорода, углерода метильной группы и фторида. В результате такого взаимодействия атом фосфора является объектом атаки нуклеофилов [5, 6]. Процесс бимолекулярного нуклеофильного замещения, реализующийся в молекуле зомана с разрывом связи P–F [7], указан на схеме.

Скорость и, как следствие, направление подобных реакций зависят от степени нуклеофильности реагентов, их концентрации, температуры и характеристик среды, в которой осуществляется реакция, поэтому учитывая наличие нескольких нуклеофильных центров в 80%-ном водном растворе МЭА, возможно образование различных гомологов исходного субстрата.

Анализ научной литературы [8, 9] и технологических параметров процесса детоксикации зомана 80%-ным водным раствором МЭА,



реализуемым на объекте по уничтожению ХО «Леонидовка» свидетельствует о том, что в ходе уничтожения БСК возможно образование следующих соединений:

– О-пинаколилметилфосфонат (является основным продуктом гидролиза фторангидрида О-пинаколилового эфира МФК, используется в качестве основного химического маркера зомана в пробах и объектах окружающей среды, медленно гидролизует до МФК);

– О-(2-амино)этил-О-пинаколилметилфосфонат (при проведении данного технологического процесса является промежуточным аддуктом, обеспечивающим быстрое протекание реакции детоксикации зомана в О-пинаколилметилфосфонат; учитывая данный факт использование О-(2-амино)этил-О-пинаколилметилфосфоната в качестве маркера зомана не представляется возможным);

– МФК (конечный продукт гидролиза любых эфиров МФК, универсальный маркер всех ФОВ);

– фторгидрат МЭА (соединение, образующееся в результате разрыва связи Р–F зомана, в связи с чем может являться маркером, косвенно указывающим на наличие фторидов в исходном ОВ).

Экспериментальные исследования по возможности идентификации зомана по продуктам его деструкции с использованием указанных маркеров показали следующие результаты:

– О-пинаколилметилфосфонат независимо от времени выдержки РМ, является наиболее стабильным при газохроматографировании по сравнению с другими компонентами РМ, что позволяет сделать вывод о возможности его использования в качестве основного химического маркера;

– МФК газохроматографическим методом определяется нестабильно и в большинстве случаев не обнаруживается, в связи с чем её использование в качестве маркера зомана нецелесообразно;

– фторгидрат МЭА стабильно определяется газохроматографическим методом после дополнительной процедуры пробоподготовки, таким образом, он может являться маркером, указывающим на наличие атома фтора в исходном ОВ.

Таким образом, на основании вышеизложенного можно сделать следующие выводы:

1. Совокупность теоретических и экспериментальных данных позволяет утверждать, что О-пинаколилметилфосфонат и

фторгидрат МЭА, являющиеся наиболее стабильными компонентами при определении методом газовой хроматографии, обеспечивают возможность их использования в качестве основных химических маркеров при совместном присутствии в РМ.

2. Проведённые исследования позволяют осуществить оптимизацию способа идентификации ОВ по продуктам его деструкции применительно к процессу уничтожения БСК в снаряжении зоманом.

3. Область применения предложенного методического подхода к идентификации зомана по продуктам его деструкции при уничтожении БСК может быть расширена применительно к уничтожению БСК в снаряжении отравляющим веществом типа Vx, с учётом особенностей протекания реакции детоксикации данного ОВ.

Литература

1. Конвенция о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении. Париж: GE.92-61926, 1993. 133 с.
2. Стандартные операционные процедуры анализов на месте инспекционной группой. Использование оборудования и процедур ОЗХО. ОЗХО. Технический секретариат. 26 с.
3. Капашин В.П., Кондратьев В.Б., Безруков Г.Н. и др. Химическое разоружение. Научные основы технологии уничтожения фосфорорганических отравляющих веществ и утилизации реакционных масс М.: ФУ БХ УХО, 2010. 79 с.
4. Капашин В.П., Пункевич Б.С., Элькин Г.И. Метрологическое обеспечение уничтожения химического оружия – основа безопасности химического разоружения в Российской Федерации: Монография. М.: ФУ БХУХО, 2010. 174 с.
5. Александров А.Н., Емельянов В.И. Отравляющие вещества: учеб. пособие. М.: Воениздат, 1990. 271 с.
6. Франке З., Франц П., Варнке В. Химия отравляющих веществ: учебник; в 2 т. М.: Химия, 1973. Т. 1. 440 с.
7. Кирби А., Уоррен С. Органическая химия фосфора: учебник. М.: Мир, 1972. 408 с.
8. Отчёт о НИР «Исследования по определению безопасных условий хранения реакционных масс, полученных после детоксикации отравляющих веществ», шифр «Хранение-РМ», инв. № 2076-к/3. М., 2004.
9. Савельева Е. И., Зенкевич И. Г., Кузнецова Т. А., Радилов А. С., Пшеничная Г. В. Исследование продуктов превращений фосфорорганических отравляющих веществ методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии // Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева. 2002. Т. XLVI. № 6. С. 82–91.

УДК 623.459.59

Обоснование перечня продуктов деструкции отравляющих веществ типа Vx, обеспечивающих его идентификацию при уничтожении блоков авиационных бомб

© 2014. В. Г. Мандыч¹, к.т.н., заместитель начальника управления, А. А. Островский¹, к.т.н., начальник отдела, О. В. Адысев², А. Ю. Кармишин², к.т.н., И. Н. Исаев³, к.х.н., Ю. А. Егорова³ к.х.н., Д. А. Зыгин², к.х.н., начальник отдела,
¹Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического оружия,
²Научно-исследовательский центр Федерального управления по безопасному хранению и уничтожению химического оружия,
³Филиал ФБУ «Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического оружия при Министерстве промышленности и торговли Российской Федерации (войсковая часть 70855)» – 1206 объект по хранению и уничтожению химического оружия (войсковая часть 21222),
 e-mail: fubhuho@mail.ru

Материал статьи включает методические подходы по выявлению информативных, наиболее устойчивых соединений, образующихся в процессе детоксикации отравляющих веществ типа Vx с целью использования их как химических маркеров идентификации отравляющего вещества типа Vx. Дано описание химических реакций, происходящих при детоксикации отравляющего вещества типа Vx, отмечен состав образующихся реакционных масс. Представлен процесс взаимодействия продуктов деструкции отравляющего вещества типа Vx с образованием большого набора химических соединений и лишь три из них (диизобутиловый эфир метилфосфоновой кислоты, калиевую соль изобутилметилфосфоновой кислоты и диэтиламиноэтилмеркаптид калия) рекомендуется включить в перечень соединений для идентификации отравляющего вещества типа Vx.

The paper includes methodological approaches for identifying informative, the most stable compounds formed during detoxification of toxic substances such as Vx in order to use them as chemical markers for identifying poisons of Vx-type. The chemical reactions that take place during detoxification of Vx-type poison are described, the composition of the resulting reaction masses is stated. The interaction of degradation products of the poison of Vx-type with the formation of a large set of chemical compounds is shown, and only three of the chemical compounds (diisobutyl ether of methylphosphonic acid, potassium salt of isobutylmethylphosphonic acid, and potassium diethylaminoethylmercaptide) one could recommend to be included in the list of compounds for identifying poison of Vx-type.

Ключевые слова: Vx, маркеры, реакционные массы, идентификаторы.

Keywords: Vx, markers, reaction masses, identifiers.

В настоящее время на объекте по уничтожению химического оружия (ОУХО) «Леонидовка» и ОУХО «Марадыковский» в соответствии с утверждённой технологией отсутствует возможность отобрать пробы чистого отравляющего вещества (ОВ) непосредственно из блоков авиационных бомб. Поэтому в целях подтверждения типа уничтожаемого ОВ идентификация Vx будет проводиться по продуктам его разложения в реакционной массе (РМ).

Такая идентификация предусматривает отбор и анализ проб РМ, образовавшейся в результате нейтрализации ОВ раствором РД-4М, из реактора-дозревателя 602 в корпусе 1002. Для подтверждения того, что продукты раз-

ложения ОВ типа Vx были получены именно в результате детоксикации ОВ, извлечённого из боеприпаса, а не поступили в реактор-дозреватель 602 из системы.

Наряду с этим предусмотрено использование таких данных, как результаты отбора и анализа проб нейтрализующего реагента (раствора РД-4М) до его использования. Согласно положениям Соглашений по объектам для идентификации ОВ типа Vx необходимо сочетание следующих операций:

– отбора и анализа проб РМ (образовавшейся в результате нейтрализации ОВ типа Vx, извлечённого из блоков авиационных бомб) из реактора-дозревателя 602 в целях определения согласованного списка продуктов разложения,

обеспечивающих однозначную идентификацию ОВ типа Vx;

– отбора и анализа проб РМ и промывочного раствора из реактора-дозревателя 602 в целях подтверждения очистки системы перед отбором и анализом проб РМ (образовавшейся в результате нейтрализации ОВ типа Vx) в целях идентификации ОВ типа Vx;

– отбора и анализа проб нейтрализующего реагента (раствора РД-4М) до его использования.

Отбор проб РМ из реактора-дозревателя 602 осуществляется после его предварительной промывки. Отобранные пробы в последующем подвергаются химическому анализу в целях подтверждения присутствия в данных пробах РМ различных химических веществ, позволяющих однозначно идентифицировать ОВ типа Vx по продуктам его разложения в результате взаимодействия с компонентами раствора РД-4М.

Список образующихся продуктов детоксикации зависит, прежде всего, от механизма взаимодействия ОВ типа Vx с компонентами раствора РД-4М, который отличается большой сложностью и в полной мере не исследован. По данным проведенного химического анализа, образующаяся РМ имеет следующий состав, % масс.:

диизобутиловый эфир метилфосфоновой кислоты	12,5
N,N-диэтиламиноэтилмеркапид калия	9,4
калиевая соль изобутилметилфосфоновой кислоты	12,4
(2-диэтиламино)этилизобутилсульфид	11,6
изобутиловый спирт	12,1
N-метилпирролидон	28,2
изобутилат калия	2,8
ε-капролактан	1,8

прочие соединения (калиевая соль метилфосфоновой кислоты, диизобутиловый эфир пирометилфосфоновой кислоты, различные серосодержащие соединения, абгазы и др.)

9,2

Основным компонентом раствора РД-4М, непосредственно взаимодействующим с ОВ типа Vx, является изобутилат калия.

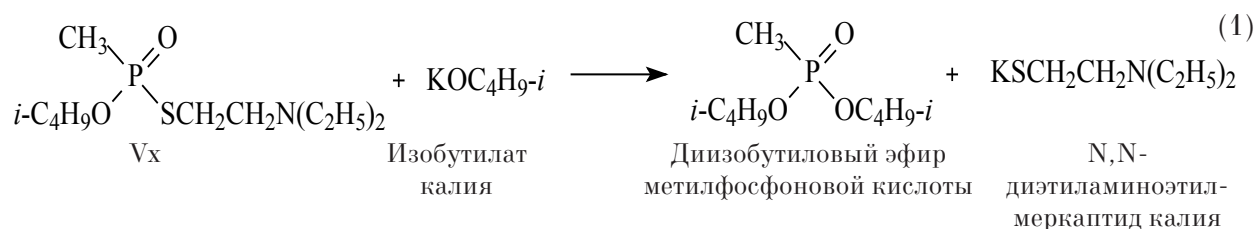
Присутствующий в РД-4М изобутиловый спирт в реакции детоксикации ОВ типа Vx не участвует. Основным его назначением является улучшение растворимости указанного алкоголята в сложной многокомпонентной органической системе.

Остальные компоненты РД-4М, такие, как N-метилпирролидон и ε-капролактан, в химическое взаимодействие с ОВ типа Vx и продуктами детоксикации ОВ типа Vx непосредственно не вступают. Они являются только растворителями и на всех стадиях химических превращений остаются в неизменном виде.

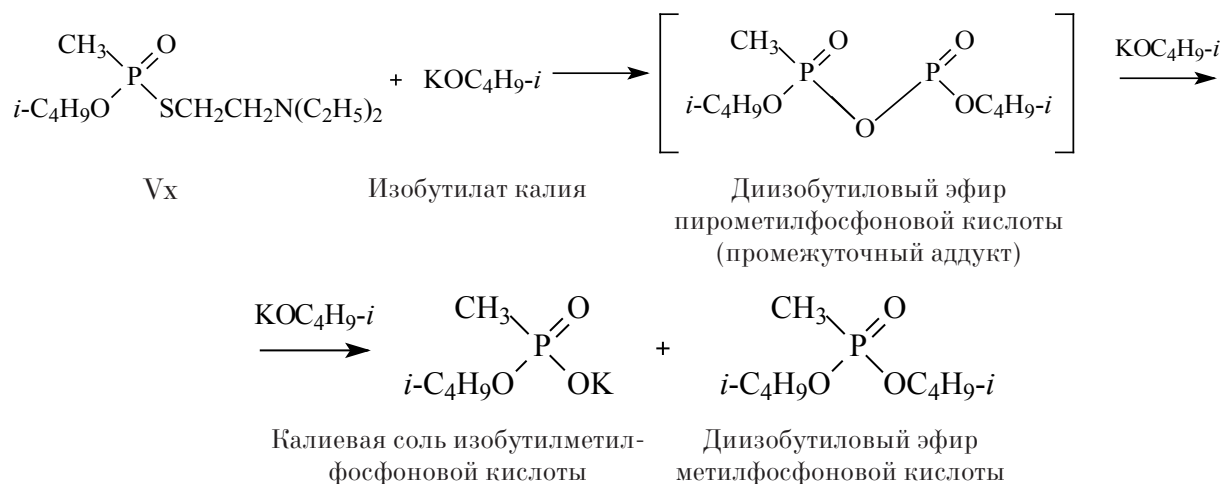
Химическое взаимодействие ОВ типа Vx с реакционноспособным компонентом раствора РД-4М (изобутилатом калия) протекает по схеме 1.

Образующиеся в процессе детоксикации ОВ типа Vx диизобутиловый эфир метилфосфоновой кислоты и N,N-диэтиламиноэтилмеркапид калия также способны вступать во взаимодействие с образованием калиевой соли изобутилметилфосфоновой кислоты и (2-диэтиламино)этилизобутилсульфида (схема 2).

Условия проведения реакции, а также практически полное отсутствие в реакционной смеси воды, способствуют образованию калиевой соли изобутилметилфосфоновой кислоты и диизобутилового эфира метилфосфоновой кислоты за счёт побочных процессов,



(3)



протекающих при детоксикации ОВ типа Vx (схема 3).

Из-за наличия в молекуле N,N-диэтиламиноэтилмеркаптида калия двух реакционных центров при проведении детоксикации ОВ типа Vx проявляется многообразие химических свойств данного химиката, что приводит к образованию в большом количестве различных серосодержащих соединений. Идентификация данных серосодержащих соединений методом газовой хроматографии весьма затруднительна. В связи с этим такие химические соединения не следует включать в список для идентификации ОВ типа Vx.

Нецелесообразно включать в этот список также изобутилат калия. Это связано с тем, что он присутствует в исходном растворе РД-4М и поэтому не может считаться непосредственным продуктом разложения ОВ типа Vx и напрямую подтвердить его идентичность.

Кроме того, за счёт протекания побочных реакций в процессе детоксикации ОВ типа Vx в образовавшейся РМ наряду с ранее указанными соединениями в относительно небольших количествах присутствуют: калиевая соль метилфосфоновой кислоты и непрореагировавший (либо образующийся в равновесных процессах) диизобутиловый эфир пирометилфосфоновой кислоты. Однако содержание этих веществ относительно мало и метод характеризуется низкой воспроизводимостью. Поэтому их включение в список химических соединений, позволяющих идентифицировать ОВ типа Vx по продуктам его разложения, нецелесообразно.

Образующийся в ходе реакции детоксикации (2-диэтиламино)этилизобутилсульфид в определённых условиях проявляет нестабильность свойств при хроматографическом

анализе. Это затрудняет его идентификацию с использованием стандартных библиотечных масс-спектров. Поэтому данное соединение также нецелесообразно включать в указанный список.

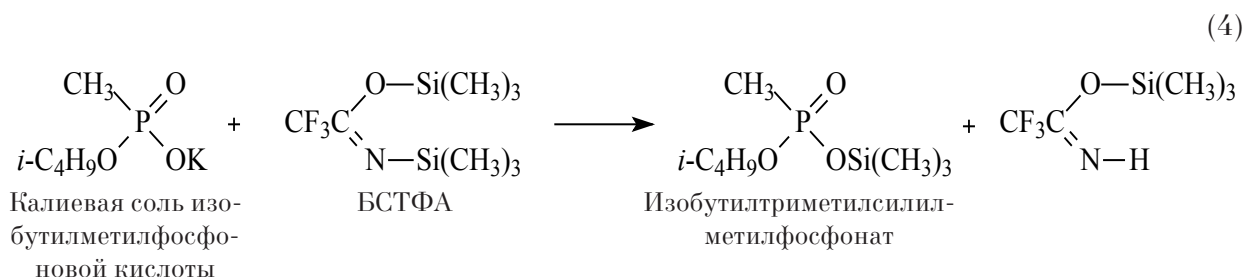
В то же время диизобутиловый эфир метилфосфоновой кислоты, калиевая соль изобутилметилфосфоновой кислоты и диэтиламиноэтилмеркаптит калия присутствуют в РМ в достаточных количествах и отличаются приемлемой стабильностью. При этом перечисленные соединения имеют химическое строение, структурно тесно связанное с исходными взаимодействующими веществами. Исходя из этого, они могут быть рекомендованы для включения в указанный список.

Однако из трёх данных химикатов только диизобутиловый эфир метилфосфоновой кислоты непосредственно определяется хроматографическим методом. Для определения N,N-диэтиламиноэтилмеркаптида калия и калиевой соли изобутилметилфосфоновой кислоты их необходимо перевести в формы, пригодные для перевода в паровую фазу в испарителе газового хроматографа, что потребует проведения предварительной пробоподготовки.

Калиевую соль изобутилметилфосфоновой кислоты можно перевести в изобутилтриметилсилилметилфосфонат посредством реакции дериватизации с силилирующим агентом N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамида (БСТФА) (схема 4).

N,N-диэтиламиноэтилмеркаптит калия в кислой среде переводится в хроматографируемый диэтиламиномеркаптан (схема 5).

В качестве примера, иллюстрирующего описанные выше химические процессы, в приложении к данной информации представлены результаты химического анализа



(4)



(5)

О,О-диизобутилметилфосфоната и N,N-диэтиламиноэтилмеркаптана в пробах реакционной массы, полученной в лабораторных условиях при моделировании процесса детоксикации ОВ типа Vx нейтрализующим реагентом РД-4М применительно к объявленной технологии уничтожения блоков авиационных бомб. При этом в качестве ОВ использовали государственный стандартный образец ОВ типа Vx. Из анализа полученных данных следует, что вероятности идентификации О,О-диизобутилметилфосфоната и N,N-диэтиламиноэтилмеркаптана превышают 90%. При этом измеренные площади характеристических хроматографических пиков данных веществ имеют хорошую стати-

стическую воспроизводимость, что в полном объеме подтверждает описанные выше процессы детоксикации ОВ типа Vx с использованием РД-4М.

Таким образом, для однозначной идентификации Vx по продуктам его разложения, образующимся в результате взаимодействия ОВ типа Vx с компонентами раствора РД-4М при уничтожении блоков авиационных бомб, могут использоваться следующие химические соединения:

- диизобутиловый эфир метилфосфоновой кислоты;
- калиевая соль изобутилметилфосфоновой кислоты;
- диэтиламиноэтилмеркапид калия.

УДК 623.459.59

**Основные аспекты использования простейших средств контроля
отравляющих веществ применительно к процессу вывода
из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности объектов
по уничтожению химического оружия**

© 2014. И. В. Коваленко, к.т.н., с.н.с., А. С. Лякин, к.т.н., нач. отдела,
А. Н. Комиссаров, с.н.с., С. Ю. Коняхин, м.н.с.,
Научно-исследовательский центр Федерального управления
по безопасному хранению и уничтожению химического оружия,
e-mail: fubhuho@mail.ru

В статье описаны основные подходы по использованию средств контроля отравляющих веществ в процессе вывода из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности объектов хранения и уничтожения химического оружия. Отмечены санитарно-гигиенические требования к контролю воздуха рабочей зоны в помещениях I и II групп опасности. Оперативное решение задач контроля отравляющих веществ при ликвидации последствий деятельности объектов по уничтожению химического оружия рекомендуется проводить с использованием индикаторных трубок, индикаторных плоских элементов, современных детекторов и новых средств обнаружения отравляющих веществ – аспираторов. Дана характеристика индикаторных трубок с указанием возможных диапазонов концентраций обнаружения различных отравляющих веществ. Сделан анализ проектной документации по контролю воздуха рабочей зоны, даны рекомендации по использованию переносных средств контроля отравляющих веществ при выводе из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности объектов по хранению и уничтожению химического оружия.

The article describes the main approaches to using the means of poison substances control during decommission and mitigation of chemical weapons storage and destruction plants. Sanitary requirements to monitoring workplace air in rooms of I and II risk groups are given. Efficient control of toxic substances in relation to the process of decommission and mitigation of activities of weapons destruction plants is recommended to be performed using indicator tubes, display flat elements, modern detectors and new means of detecting toxic substances – aspirators. Indicator tubes with stating the possible ranges of detection of various concentrations of toxic substances are characterized. Project documentation of workplace air control is analyzed, recommendations on using portable monitors of toxic substances control during decommissioning and eliminating the effects of chemical weapons destruction storage plants are offered.

Ключевые слова: средства контроля отравляющих веществ, индикаторные трубки, индикаторные плоские элементы, современные детекторы, диапазоны концентраций, обеспечение безопасности.

Keywords: toxic substances control means, display tubes, display planar elements, modern detectors, concentration ranges, security.

Контроль безопасности функционирования объектов по уничтожению химического оружия (ХО) на протяжении всего жизненного цикла от ввода объектов в эксплуатацию до полной ликвидации последствий их деятельности является одним из приоритетных направлений реализации Федерального закона «Об уничтожении химического оружия» [1].

Нормативная база, регламентирующая санитарно-гигиенические требования к контролю воздуха рабочей зоны устанавливает, что в помещениях I и II групп опасности должен быть организован:

– непрерывный и систематический контроль содержания отравляющих веществ (ОВ)

в воздухе рабочей зоны при нормальном течении технологического процесса;

– оперативный контроль содержания ОВ в воздухе рабочей зоны при аварийных ситуациях, ремонтных работах, при срабатывании автоматических газосигнализаторов.

На этапе уничтожения химического оружия вопросы контроля ОВ в воздухе рабочей зоны решаются стационарными газосигнализаторами с чувствительностью 1 ПДК_{р.з.} и 100 ПДК_{р.з.}, входящими в состав системы контроля безопасности производства.

На этапе ликвидации последствий деятельности объектов по уничтожению ХО в соответствии с санитарными правилами [1]

предусматривается аналитический контроль содержания ОВ в воздухе рабочей зоны, в воздухе технологического оборудования и ёмкостей до их вскрытия и демонтажа, на поверхности оборудования и средствах индивидуальной защиты (СИЗ), в промывных и сточных водах. Однако указанными санитарными правилами не установлен конкретный вид средств, с помощью которых предполагается выполнение мероприятий контроля ОВ.

Оперативное решение задачи контроля ОВ при ликвидации последствий деятельности объектов по уничтожению ХО возможно при помощи переносных средств с использованием простейших средств индикации, таких, как индикаторные трубки и индикаторные плоские элементы. Простейшими и массовыми средствами обнаружения ОВ в воздухе являются войсковые приборы, среди которых особое место занимают войсковой прибор химической разведки (ВПХР) и полуавтоматический прибор химической разведки (ППХР). Обнаружение ОВ осуществляется применением различных индикаторных трубок.

Кроме того, в целях обнаружения ОВ нашли применение промышленные средства: широко известный экспресс – детектор НР-05, новые средства обнаружения ОВ – аспираторы АПХ-03 и АПХ-05П.

Экспресс-детектор НР-05 в комплекте с набором реактивов предназначен для контроля загазованности воздуха рабочей зоны парами фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ). Аспираторы АПХ-03 и АПХ-05П, так же как и приборы ВПХР и ППХР, осуществляют обнаружение ОВ с применением индикаторных трубок.

Наибольшее применение для решения задач химического контроля на объектах по хранению и уничтожению ХО нашли индикаторные трубки ИТ-51 (для контроля ФОВ), ИТ-36 и ИТ-13-37 (для контроля иприта и люизита соответственно). При уничтожении аварийных боеприпасов практически применялись новые индикаторные трубки ИТ-52 для контроля ФОВ.

Индикаторная трубка ИТ-51 обеспечивает обнаружение ФОВ с вероятностью не менее 0,9 на уровне не хуже $5,0 \times 10^{-8}$ мг/л и выше в диапазоне концентраций соответствующих:

- опасной или очень опасной концентрации – $2,0 \times 10^{-5}$ мг/л и выше;
- опасной или малоопасной концентрации – $5,0 \times 10^{-8} \div 2,0 \times 10^{-5}$ мг/л;
- отсутствию или наличию ОВ в концентрациях менее $5,0 \times 10^{-8}$ мг/л [3].

Индикаторная трубка ИТ-52 обеспечивает обнаружение ФОВ в диапазоне, соответствующем:

- концентрации «опасно» – $2,0 \times 10^{-5}$ мг/л;
- концентрации «малоопасно» – $5,0 \times 10^{-8}$ мг/л – $2,0 \times 10^{-5}$ мг/л;
- концентрации «не опасно» или «не обнаружено» менее $5,0 \times 10^{-8}$ мг/л.

При этом обеспечивается обнаружение зарина и зомана в диапазоне концентраций – $5,0 \times 10^{-8} \div 2,0 \times 10^{-5}$ мг/л, а для отравляющего вещества типа Vx – $(1,0 \pm 0,5) \times 10^{-8}$ мг/л [4].

Индикаторная трубка ИТ-13-37 обеспечивает обнаружение люизита в диапазоне, соответствующем:

- концентрации «очень опасно» – 0,05–1,3 мг/л;
- концентрации «опасно» – 0,05 мг/л;
- концентрации «малоопасно» – 0,002 мг/л [5].

Индикаторная трубка ИТ-36 обеспечивает обнаружение иприта в диапазоне, соответствующем:

- концентрации «очень опасно» – 0,3 мг/л;
- концентрации «опасно» – 0,01 мг/л;
- концентрации «малоопасно» – 0,002–0,003 мг/л [6].

Индикаторные трубки хорошо зарекомендовали себя при решении задач химического контроля. Экспериментально установлено, что основной показатель назначения индикаторной трубки – чувствительность, которая сохраняется и за пределами гарантийного срока ИТ.

Каковы могут быть практические аспекты использования простейших средств обнаружения ОВ при ликвидации последствий деятельности объекта по уничтожению ХО?

При выполнении мероприятий по выводу из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности объекта по уничтожению ХО предусматривается аналитический контроль содержания ОВ: в воздухе рабочей зоны, в воздухе технологического оборудования и ёмкостей до и во время проведения демонтажных работ, на внутренних и наружных поверхностях технологического оборудования, на поверхности строительных конструкций, в «глубинных» пробах строительных конструкций (пол, стены, потолок) и оборудования (соскобы краски), в промывных и сточных водах, а также на СИЗ работающих.

При этом необходимо отметить, что до окончания мероприятий по выводу объекта по уничтожению ХО из эксплуатации контроль ОВ будет проводиться существующей системой контроля безопасности производства, в

состав которой входят стационарные газосигнализаторы с чувствительностью 1 ПДК_{р.з.} и 100 ПДК_{р.з.}.

При ликвидации последствий деятельности объекта по уничтожению ХО в производственных помещениях, в которых возможно накопление паров ОВ в концентрациях, опасных для здоровья персонала, необходимо предусматривать наличие автоматических газосигнализаторов с чувствительностью на уровне ПДК_{р.з.} [7].

Анализ проектной документации [8] показал, что контроль воздуха рабочей зоны предусматривается аналитическими (газохроматографическими) методами по согласованному графику аналитического контроля. Контроль воздуха на уровне требований, установленных нормативов ПДК_{р.з.} по ОВ, предусматривается осуществлять перед началом и в ходе проведения дегазационных работ, а также перед началом и в ходе проведения работ по демонтажу и разделке оборудования и разрушению строительных конструкций, в вентиляционных выбросах в ходе проведения дегазационных работ и работ по демонтажу, разделке оборудования и разрушению строительных конструкций.

Аналитические методы контроля обладают высокой чувствительностью и точностью измерений, позволяют получить достоверный результат в пределах погрешности, установленной в соответствующей методике измерения. Время получения результата измерения может достигать 2-х часов (без учёта времени отбора пробы).

Простейшие средства химического контроля, такие как индикаторные трубки, позволяют с вероятностью 0,95 оценить степень опасности в диапазоне от опасных до неопасных концентраций в течение не более 10–15 мин.

Основные рекомендации по использованию переносных средств контроля ОВ при выводе из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности объектов по уничтожению ХО заключаются в следующем.

1. Контроль воздуха на уровне требований, установленных нормативов ПДК_{р.з.} по ОВ, осуществлять в следующих случаях: перед началом и в ходе проведения дегазационных работ; перед началом и в ходе проведения работ по демонтажу, разделке оборудования и разрушению строительных конструкций.

Точки проведения химического контроля должны быть указаны в графике аналитического контроля при разработке проектной документации.

2. Для решения задач химического контроля рекомендуется использовать индикаторные трубки ИТ-51, ИТ-52, ИТ-36 и ИТ-13-37.

Контроль воздуха рабочей зоны в помещениях, где проводятся ликвидационные работы, следует проводить по схеме, при которой в каждом помещении должно быть установлено пять точек контроля. На каждой из точек контроля целесообразно использовать не менее трёх индикаторных трубок.

Контроль воздуха рабочей зоны должен осуществляться с периодичностью: один раз перед началом работы смены, один раз после окончания работы смены и не менее одного раза за период работы смены.

Ориентировочный расход индикаторных трубок (в целях контроля содержания ОВ в воздухе рабочей зоны) в одном помещении за смену может составить 45–60 шт.

Контроль воздуха технологического оборудования (из ёмкостей, резервуаров, реакторов и т. п.) осуществляется после его вскрытия, при этом место вскрытия является точкой контроля. В каждой точке контроля целесообразно использовать не менее трёх индикаторных трубок. Количество точек контроля будет определяться числом одновременно вскрываемого для проведения ликвидационных работ единиц оборудования.

3. В качестве переносных средств контроля ОВ целесообразно использовать приборы АПХ-03 или ВПХР. Количество переносных средств контроля будет определяться числом помещений (сооружений, зданий) в которых предусматривается одновременное проведение работ по ликвидации последствий деятельности.

4. При обнаружении в воздухе индикаторными трубками малоопасных концентраций ОВ, необходимо осуществлять отбор пробы воздуха в точках, где определено повышенное содержание ОВ, при помощи пробоотборных устройств ПП-5 «Штиль» и ПП-100М «Циклон».

Отобранные пробы воздуха в этом случае целесообразно направлять в аналитическую лабораторию для уточнения количественных показателей содержания ОВ с применением газохроматографических методов анализа.

5. В целях обеспечения безопасности персонала, занятого на работах по ликвидации последствий деятельности, полагается целесообразным предусмотреть использование аспиратора полуавтоматического химического персонального АПХ-05П. Указанный аспиратор позволит определить среднюю концентрацию

ОВ (при их наличии) за время выполнения работы сменой работников. Использование АПХ-05П предусмотреть главным образом для работников, участвующих в работах по демонтажу и разделке технологического оборудования.

Таким образом, использование простейших средств химического контроля для оценки химической обстановки при проведении работ по ликвидации последствий деятельности объектов по уничтожению ХО представляется целесообразным.

Литература

1. Федеральный закон от 2 мая 1997 г. № 76-ФЗ «Об уничтожении химического оружия».

2. Санитарные правила СП 2.2.1.2513-09 «Гигиенические требования к размещению, проектированию, строительству, эксплуатации и перепрофилированию объектов по уничтожению химического оружия, рекон-

струкции зданий и сооружений и выводу из эксплуатации объектов по хранению и уничтожению химического оружия». Роспотребнадзор РФ. Москва. 2009.

3. Трубка индикаторная ИТ-51. Технические условия. РЮАЖ.415522.217ТУ.

4. Трубка индикаторная ИТ-52. Технические условия. РЮАЖ.415522.252ТУ.

5. Трубка индикаторная ИТ-13-37. Технические условия. РЮАЖ.415522.213ТУ.

6. Трубка индикаторная ИТ-36. Технические условия. РЮАЖ.415522.211ТУ.

7. Исходные данные на вывод из эксплуатации и ликвидацию последствий деятельности промышленных сооружений объекта по уничтожению химического оружия в г. Камбарке Удмуртской Республики. ФГУП «ГосНИИОХТ». Москва. 2009.

8. Проектная документация на проведение работ по ликвидации последствий деятельности объекта по уничтожению и бывшего объекта по хранению химического оружия в г. Камбарка Удмуртской Республики. ФГУП «СоюзпромНИИпроект». Москва. 2009.

УДК 623.459.59

Тенденции в развитии простейших средств контроля отравляющих веществ на объектах по хранению и уничтожению химического оружия

© 2014. А. Н. Комиссаров, с.н.с., И. В. Коваленко, к.т.н., с.н.с.,
А. С. Лякин, нач. отдела, Р. Р. Балкаров, м.н.с.,
Научно-исследовательский центр Федерального управления
по безопасному хранению и уничтожению химического оружия,
e-mail: fubhuho@mail.ru

Описано устройство приборов и средств обнаружения отравляющих веществ в воздухе. Основными средствами обнаружения отравляющих веществ на объектах хранения и уничтожения химического оружия являются войсковой прибор химической разведки (ВПХР) и полуавтоматический прибор химической разведки (ППХР). Обнаружение отравляющих веществ данными средствами осуществляется с применением различных индикаторных трубок. Основной задачей в разработке современных приборов, аналогичных ВПХР, является совершенствование способов отбора проб воздуха автоматическими методами. Для этой цели предлагается применять принцип фиксированного отбора пробы воздуха через индикаторную трубку. Данный подход был реализован ЗАО НПФ «СЕРВЕК» при разработке различных марок аспираторов с использованием набора индикаторных трубок. Наряду с описанием аспираторов материал статьи включает описание принципов их действия и расчёты по определению концентрации загрязняющих веществ в воздухе.

Construction of instruments of detecting toxic substances in the air is described. The principal means of detecting toxic substances at chemical weapons storage and destruction plants are a field device of chemical detection (VPHR) and a semi-automatic chemical detection device (PPHR). Detection of toxic substances by the above mentioned means is carried out using a variety of test tubes. The main objective in developing modern devices similar to VPHR is improving automatic air sampling methods. For this purpose it is offered to use the principle of a fixed air sampling through the indicator tube. This approach has been implemented in CJSC NPF "SERVEK" at developing various brands of aspirators using a set of test tubes. Along with the description of aspirators the article describes the principles of their actions and calculations aiming to determine the concentration of pollutants in the air.

Ключевые слова: войсковой прибор химической разведки, аспиратор, индикаторная трубка.

Keywords: field device of chemical detection, aspirator, indicator tube.

К числу простейших и массовых средств обнаружения отравляющих веществ в воздухе относятся войсковой прибор химической разведки (ВПХР) и полуавтоматический прибор химической разведки (ППХР) [1–3]. Обнаружение отравляющих веществ осуществляется с применением различных индикаторных трубок.

Войсковой прибор химической разведки ВПХР (рис. 1) предназначен для определения в воздухе, на местности, вооружении и военной технике зарина, зомана, иприта, фосгена, дифосгена, синильной кислоты, хлорциана, люизита, адамсита, хлорацетофенона, а также паров отравляющих веществ Vx и VZ (хинуклидиловый эфир бензиловой кислоты) в воздухе.

Принцип работы прибора ВПХР заключается в следующем: при просасывании ручным поршневым насосом заражённого

воздуха через общевоинские индикаторные трубки в них происходит изменение окраски наполнителя под действием отравляющих веществ. По изменению окраски наполнителя и её интенсивности или времени перехода окраски судят о наличии отравляющего вещества и его примерной концентрации.

Назначение полуавтоматического прибора химической разведки ППХР такое же, как и прибора ВПХР. Прибором ППХР оснащаются машины для обнаружения отравляющих веществ в воздухе.

Принцип работы его аналогичен принципу работы ВПХР, отличие состоит в том, что анализируемый воздух в ППХР просасывается через индикаторные трубки с помощью ротационного насоса с электрическим приводом. Электропитание прибора осуществляется от бортовой сети машины напряжением 12 В.



Рис. 1. Общий вид войскового прибора химической разведки.

Основным средством обнаружения отравляющих веществ на объектах по хранению и уничтожению химического оружия является прибор ВПХР. При помощи ВПХР решаются следующие основные задачи:

- периодический контроль наличия отравляющих веществ в местах хранения химических боеприпасов;
- постоянный контроль отравляющих веществ при осуществлении работ по подготовке к отправке химических боеприпасов с объекта по хранению на объект по уничтожению химического оружия;
- постоянный контроль отравляющих веществ в контейнерах с боеприпасами, поступивших с объекта по хранению на объект по уничтожению химического оружия.

Высокая интенсивность проведения работ, связанных с контролем отравляющих веществ при осуществлении работ по подготовке к отправке химических боеприпасов с объекта по хранению на объект по уничтожению химического оружия, выявила необходимость разработки более совершенного средства пробоотбора, исключающего основные недостатки при использовании насоса прибора ВПХР, заключающиеся в необходимости выполнения 120 качаний насосом для определения необходимой безопасной концентрации отравляющего вещества.

Таким образом, основной задачей в разработке прибора, аналогичного ВПХР, является совершенствование способов отбора проб воздуха на основе его автоматизации.



Рис. 2. Общий вид аспиратора АМ-0059.

Анализ развития простейших средств определения загрязняющих веществ в воздухе показал, что задачу пробоотбора можно решить с использованием принципа фиксированного отбора пробы воздуха через индикаторную трубку.

Данный подход был реализован ЗАО НПФ «СЕРВЭЖ» при разработке аспиратора АМ-0059 (рис. 2), который используется с набором индикаторных трубок для определения различных загрязняющих и вредных веществ.

Аспиратор АМ-0059 – механический поршневого типа со счётчиком циклов, он предназначен для прокачивания воздуха через индикаторные трубки и представляет собой небольшой ручной насос, осуществляющий отбор пробы воздуха фиксированного объёма: 100 см³.

Данный прибор явился прообразом при разработке аспиратора АПХ-03.

Аспиратор полуавтоматический химический АПХ-03 (рис. 3, 4) предназначен для отбора пробы исследуемого воздуха с использованием индикаторных трубок для обнаружения отравляющих веществ и оценке степени опасности загрязнения воздуха этими веществами.

Первые два образца АПХ-03 были подвергнуты опытной эксплуатации на объекте по хранению и уничтожению химического оружия в пос. Мирный Кировской области.

Задачами опытной эксплуатации являлись:



Рис. 3. Аспиратор АПХ-03.

– проверка и подтверждение соответствия технических характеристик aspirаторов АПХ-03;

– оценка эксплуатационных характеристик aspirаторов АПХ-03;

– рекомендации о возможности использования aspirаторов АПХ-03 с индикаторными трубками на объектах по хранению и уничтожению химического оружия для контроля отравляющих веществ в воздухе.



Рис. 4. Доработанное устройство для вскрытия ампул aspirатора АПХ-03.

По результатам опытной эксплуатации aspirатор АПХ-03 был доработан и внедрён на объектах по уничтожению химического оружия.

Первые партии aspirаторов АПХ-03 были поставлены на объекты по хранению и уничтожению химического оружия «Почеп» Брянской области и «Кизнер» Удмуртской Республики.

Аspirатор АПХ-05П (рис. 5, 6) был разработан в инициативном порядке в 2012 г. ЗАО НПФ «СЕРВЭК».

Аspirатор полуавтоматический, химический, персональный АПХ-05П разработан на основе опыта разработки aspirатора АПХ-03 и предназначен для прокачивания воздуха с расходом 1,0 л/мин. через индикаторные трубки ИТ-51 или ИТ-52 с целью обнаружения в воздухе фосфорорганических отравляющих



Рис. 5. Общий вид aspirатора АПХ-05П с защитным кожухом для ИТ.



Рис. 6. Общий вид аспиратора АПХ-05П.

веществ (ФОВ) (зарин, зоман, отравляющее вещество типа Vx). Аспиратор АПХ-05П может использоваться как индивидуальный дозиметр в экспозиционном режиме при определении содержания ФОВ в воздухе.

Одной из особенностей аспиратора АПХ-05П является возможность его использования в качестве химического дозиметра, т. к. индикаторная трубка ИТ-51 (или ИТ-52) при длительном прокачивании через неё воздуха со скоростью $1,0 \pm 0,1$ л/мин., работает как экспозиционная трубка во времени, заданном оператором: 1 час, 2 часа и т. д., рабочая смена. При этом ИТ поглощает содержащиеся в воздухе пары ФОВ в течение заданного времени. Используя объёмный расход 1 л/мин. и зная длительность отбора проб воздуха, определяют объём воздуха, прошедшего через ИТ, и устанавливают условное содержание ФОВ в воздухе ниже порога чувствительности ИТ.

Порядок работы аспиратора АПХ-05П в случае его использования как химического дозиметра следующий. Проводится предварительная оценка степени опасности загрязнения воздуха ФОВ. С этой целью необходимо прокачать через ИТ воздух в объёме 4,0 л (произвести отбор воздуха в течение 4,0 мин. со скоростью 1 дм³/мин.). Далее все действия

с ИТ проводить в соответствии с эталонами окраски, указанной на этикетке кассеты.

Если изменение окраски наполнителя соответствует 1-му эталону (опасно) или 2-му (малоопасно), дальнейшие работы с использованием аспиратора в качестве индивидуального дозиметра не проводятся.

Однако, если изменение окраски наполнителя соответствует 3-му эталону (не обнаружено), то определение в воздухе содержания ФОВ возможно в экспозиционном режиме ИТ. Для отбора пробы необходимо включить аспиратор, нажав на кнопку и одновременно зафиксировав время. После работы аспиратора в течение 1 часа необходимо его отключить, вынуть ИТ и провести все действия в соответствии с эталонами окраски, указанной на этикетке кассеты. Если изменение окраски ИТ соответствует 2-му эталону, то условную концентрацию ФОВ можно посчитать по формуле:

$$C = m/V,$$

где:

$m=20 \cdot 10^{-8}$ мг – количество вещества, поглощённого ИТ в соответствии с инструкцией,
 V – объём воздуха, прошедшего через ИТ за 60 мин. со скоростью 1 дм³/мин., ($V=60$ л).

Таким образом, основным направлением совершенствования и развития средств контроля отравляющих веществ является автоматизация процесса отбора пробы воздуха с фиксированным объёмом.

Литература

1. Калинина Н.И. К вопросу о стандартах безопасности при уничтожении химического оружия // Токсикологический вестник. 1994. № 3. С. 6–9.
2. Чеботарев О.В., Дружинин А.А., Пашинин В.А., Сеницын А.Н. Экспресс-анализ на объектах по хранению и уничтожению химического оружия с использованием табельных технических средств химической разведки и химического контроля // Российский химический журнал. 1994. Т. 38. № 2. С. 69–73.
3. Ашихмина Т.Я. Комплексный экологический мониторинг объектов хранения и уничтожения химического оружия. Киров: Вятка, 2002. 544 с.

УДК 623.459.84:623.459.86

Методические аспекты проведения работ по подготовке объектов хранения и уничтожения химического оружия к мероприятиям по выводу их из эксплуатации

© 2014. Ю. В. Новойдарский^{1,3}, командир объекта, Т. Я. Ашихмина^{2,3}, д.т.н., зав. лабораторией биомониторинга, зав. кафедрой химии, И. Г. Широких^{2,4}, д.б.н., ведущий научный сотрудник, Л. И. Домрачева^{2,5}, д.б.н., ведущий научный сотрудник, С. Ю. Огородникова^{2,3}, к.б.н., с.н.с.,

¹Объект по хранению и уничтожению химического оружия «Кизнер», Удмуртская Республика,

²Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,

³Вятский государственный гуманитарный университет,

⁴Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого РАСХН,

⁵Вятская государственная сельскохозяйственная академия,
e-mail: ecolab2@gmail.com

Уничтожение запасов химического оружия в нашей стране находится на завершающем этапе. После уничтожения на арсеналах всех имеющихся запасов отравляющих веществ планируется проведение комплекса мероприятий по приведению в безопасное состояние территорий, где хранилось и уничтожалось химическое оружие. Мероприятия по ликвидации последствий деятельности объектов хранения и уничтожения химического оружия должны проводиться как на промышленной площадке, так и в санитарно-защитной зоне объекта. Выбор наиболее эффективных методов санации (рекультивации) должен базироваться на сборе и анализе информации о территории, на которой расположен перепрофилируемый объект, уровне и характере химического загрязнения всех расположенных на его территории зданий, сооружений, конструкций, оборудования и коммуникаций, а также о состоянии компонентов природной среды. В данной работе отражены приёмы, методы и технологии санации оборудования, зданий и сооружений, почвогрунтов, предложены методические рекомендации по подготовке к проведению реабилитационных мероприятий на объектах хранения и уничтожения химического оружия.

Decommission of chemical weapons in our country is at its final stage. A special complex of events is planned in order to make safe the territories of the former chemical weapons store and destruction plants after decommissioning all existing stockpiles of chemical agents stored there. Special measures of eliminating the effects of chemical weapons storage and destruction should be performed on-site and in the buffer zone of the object. Choosing the most effective methods of rehabilitation should be based on information collection and analysis on the territory of the converted plant, on the level and nature of chemical contamination of the buildings, equipment, communications, and the environment on the whole. This paper presents techniques, methods and technologies of rehabilitation of the equipment, buildings, soil, the guidelines proposed for rehabilitation measures at the chemical weapons storage and destruction plants are offered.

Ключевые слова: ликвидация последствий деятельности, реабилитационные мероприятия, санация, ремедиация.

Keywords: elimination of the effects, rehabilitation measures, rehabilitation, remediation.

Завершающийся процесс уничтожения химического оружия в Российской Федерации ставит вопросы перепрофилирования действующих объектов по хранению и уничтожению химического оружия (ХО) и возможного использования занятых ими территорий по любому из возможных предназначений. Однако использование производственных мощностей и помещений, технологического оборудования, задействованных площадей станет возможным только после проведения

мероприятий по выводу объектов по хранению и уничтожению химического оружия из эксплуатации, а также приведению в безопасное состояние территорий, на которых были расположены данные объекты, включая места бывшего хранения и уничтожения ХО [1, 2].

Перепрофилирование и ликвидация подобных особо опасных химических производств влечёт за собой образование большого количества отходов, представляющих собой неоднородные по химическому и количественному

составу сложные поликомпонентные системы, включающие широкий спектр органических и неорганических соединений, обладающих различными физико-химическими и токсическими свойствами, способствующими миграции компонентов в окружающую среду [3].

Мероприятия по ликвидации последствий деятельности объектов хранения и уничтожения химического оружия при необходимости должны быть проведены и в отношении объектов окружающей среды на промышленной зоне объекта, на территории хранения запасов химического оружия, а также в санитарно-защитной зоне объекта. Использование земельных участков, на которых располагались объекты по хранению и уничтожению химического оружия, в будущем под промышленные объекты подразумевает углублённое обследование почв и грунтов, для их дальнейшей реабилитации с последующей оценкой возможности использовать эти земли под строительство и эксплуатацию других объектов.

Относительно реабилитации почв и грунтов на сегодня разработан ряд мероприятий, включающих: создание геохимических барьеров, обваловок и устройств, снижающих миграционную способность загрязняющих веществ; нанесение изолирующих бетонных или асфальтовых слоёв, смешивание с незагрязнёнными субстратами; организация подземных барьеров, горизонтальных экранов, понижающих уровень грунтовых вод; рекультивация земельных участков после возвращения обезвреженного грунта (засыпка плодородным слоем почвы, засеивание травой, посадка кустарников).

Наряду с этим при санации (реабилитации) территорий могут использоваться и различные физико-химические методы обработки почв и грунтов; осушение территорий и отсос воздуха из грунта; экстракция, адсорбция, окисление или восстановление загрязнённого грунта, обезвреживание почв на загрязнённых участках; сжигание, коксование, обработка высокими температурами; нейтрализация загрязнителя посредством связывания его в реагенте (капсуле), не пропускающем загрязняющее вещество в окружающую среду [4–6].

Известны способы электрохимической и биологической очистки почв и грунтов от радиоактивных и токсичных веществ, основанные на использовании потенциалов напряжения постоянного тока, и растений, накапливающих в вегетативной массе токсические вещества [7, 8].

Если раньше при более низких уровнях загрязнения достаточно было использовать физические меры снижения влияния химического загрязнения на почвы, то при значительно больших масштабах химического загрязнения и специфических загрязняющих веществах, например, мышьяксодержащими загрязнителями, на первый план выходят химические методы: обезвреживание земельных участков без выемки грунта методом взрыхления с одновременной обработкой рецептурой при перемешивании в местах загрязнений; выемка почвы и грунта, их химическая дегазация и термическая обработка с последующим возвращением обезвреженного грунта в места изъятия [2].

Большая роль отводится за последнее время биологическим методам очистки почв, грунтов путём применения для этих целей препаратов на основе гуминовых кислот [9], окисления или восстановления микроорганизмами загрязняющих веществ, которые они используют в качестве субстратов [8, 10–13]. Проводятся работы по изучению протекторных свойств цианобактерий в отношении растений, произрастающих в условиях загрязнения метилфосфонатами [14, 15].

Перспективным в ремедиации почв является метод детоксикации (снижение токсического действия) путём образования малотоксичных комплексных соединений, а также основанный на поглощении и удержании влаги с растворёнными в ней токсическими веществами, природными и химическими мелиорантами [16, 17].

Безусловно, вывоз, захоронение поверхностного слоя почвы и все перечисленные методы санации почв является крайне сложными в исполнении процедурами и весьма затратными как с экономической, так и экологической точки зрения. В связи с этим необходимо выбирать наиболее оптимальные из них с учётом особенностей каждого объекта и территории. Целесообразно предусмотреть несколько способов (технологий) приведения в безопасное состояние почвогрунтов, оборудования, зданий и сооружений.

Выбор наиболее эффективных методов санации должен базироваться на сборе и анализе информации о территории, на которой расположен перепрофилируемый объект, уровне и характере химического загрязнения всех расположенных на его территории зданий, сооружений, конструкций, оборудования и коммуникаций, а также о состоянии компонентов природной среды.

С учётом данных требований разработаны мероприятия по санации загрязнённых зданий (сооружений) и территорий [18], принадлежащих объектам хранения и уничтожения химического оружия, включающие:

- комплексное обследование территорий (зданий, сооружений) с целью оценки загрязнённости на наличие отравляющих веществ и продуктов их деструкции;
- разработка комплекса мероприятий по санации загрязнённых территорий при выводе из эксплуатации промышленных зданий и сооружений и ликвидации последствий деятельности объектов в целях репрофилирования;
- создание необходимых мощностей для утилизации загрязнённого грунта и непригодного для дальнейшего применения промышленного оборудования, а также строительных конструкций зданий и сооружений;
- обезвреживание (санация) почв на загрязнённых участках территории объектов;
- рекультивация земельных участков после возврата обезвреженного грунта, засыпка плодородным слоем почвы.

Методические рекомендации: по осуществлению федерального государственного санитарно-эпидемиологического надзора при выводе из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности объектов по хранению и объектов по уничтожению химического оружия; по организации санитарно-химического контроля за состоянием производственной и окружающей среды при выводе из эксплуатации объектов по хранению и объектов по уничтожению разработаны специалистами Федерального государственного унитарного предприятия «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» Федерального медико-биологического агентства, утверждены заместителем руководителя Федерального медико-биологического агентства, Главным государственным санитарным врачом по обслуживаемым организациям и территориям и введены в действие 21 октября 2012 г. [19, 20].

Таким образом, к настоящему времени имеются подходы, разработки, технологии и методы по санации зданий, сооружений, конструкций, оборудования и коммуникаций при выводе из эксплуатации объектов по хранению и объектов по уничтожению химического оружия. Однако пока отсутствует полноценный методологический подход к выполнению оценочных мероприятий состояния компонентов природной среды (почвенного покрова, водных объектов, донных отложений, иловых

осадков, растительности) для подготовки и проведения реабилитационных мероприятий на территориях действующих объектов по хранению и уничтожению химического оружия.

С целью выявления наиболее эффективных методов реабилитации природного комплекса в районе объектов хранения и уничтожения химического оружия, приведения в безопасное состояние загрязнённых территорий нами рекомендуется проведение следующих мероприятий.

Выбору способа и принятия решения о необходимости проведения реабилитационных мероприятий должен предшествовать определённый этап, в рамках которого проводится технико-экономическое обоснование на проведение работ по ликвидации последствий деятельности объекта по хранению и уничтожению химического оружия на окружающую среду, анализируется имеющаяся база данных.

Используя накопленную базу данных производственного экологического мониторинга объектов окружающей среды на предприятиях по хранению и уничтожению химического оружия, необходимо провести анализ по всему перечню образующихся загрязнителей, за весь период эксплуатации объекта. При этом особое внимание уделяется приоритетным загрязнителям. Кроме того, выбираются вещества, по которым были зафиксированы превышения естественного фона на объектах окружающей среды. Рассматривается динамика изменения концентрации загрязнителей по всем объектам окружающей среды. С учётом гидрогеологических особенностей и рельефа местности в местах расположения объектов по хранению и уничтожению химического оружия рассматриваются пути возможной миграции загрязняющих веществ с последующим прогнозом их предполагаемого следа загрязнения.

Наряду с этим рекомендуется проанализировать все проекты нормативов предельно допустимых выбросов в атмосферный воздух за весь период работы объекта по хранению и уничтожению химического оружия. Особое внимание следует обратить на изолинии расчёта по загрязнителям. Эти изолинии можно использовать для определения возможных концентраций на прогнозируемых зонах.

С использованием базы данных метеорологического наблюдения имеющихся на объектах метеопостов, составляется метеорологическая карта, на которую наносится роза ветров, выделяются направления, которые были наиболее часто подвержены ветровому воздействию.

На основании многолетних данных, полученных в рамках экологического мониторинга, проводится анализ состояния растительности, животного мира и микроорганизмов почвенных и водных экосистем. Эти данные сравниваются с фоновыми показателями с целью выявления возможных изменений на контролируемых участках мониторинга. Особое внимание следует обратить на динамику развития, угнетения или на исчезновение присутствующих в почве микроорганизмов, сравнить эти значения с фоном с целью выделения устойчивых микробных изолятов к имеющимся загрязнителям.

На следующем этапе работ рекомендуется провести комплексное обследование территории промплощадки и СЗЗ объектов хранения и уничтожения химического оружия с целью оценки загрязнённости, выявления наличия отравляющих веществ и продуктов их трансформации. Одновременно проводится обследование состояния водных, почвенных, лесных и луговых экосистем на территории санитарно-защитной зоны с целью оценки экологического состояния компонентов природной среды. По результатам обследований создаются карты-схемы, на которых фиксируются точки с фоновыми превышениями по выявленным веществам с целью установления существующих границ распределения специфических загрязняющих веществ на исследуемых территориях, выявления ореолов загрязнения и определения границ возможных участков проведения реабилитационных мероприятий.

На основании анализа фондовых материалов и комплексного обследования территории проводится разработка исходных данных для выполнения комплекса мероприятий по приведению в безопасное состояние загрязнённых территорий. Принимается решение о способах проведения реабилитационных мероприятий по каждому выявленному участку. Составляется план проведения реабилитационных мероприятий, который согласовывается с органами государственного контроля в области природоохранной и санитарной деятельности.

Обязательным действием для оценки состояния компонентов природной среды при разработке и выполнении мероприятий по рекультивации (санации) территорий на промплощадке и СЗЗ объектов является организация системы мониторинга, по результатам которого можно сделать вывод об эффективности проводимых мероприятий и необходимости внесения корректировок в проект рекультивации территории.

Таким образом, предлагаемые нами рекомендации по подготовке к проведению реабилитационных мероприятий на объектах хранения и уничтожения химического оружия ориентированы на выявление участков возможного воздействия загрязняющих веществ на объекты окружающей среды, с целью оптимизации планируемых работ по рекультивации и их финансирования.

Литература

1. Федеральная целевая программа «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации». Постановление Правительства РФ от 21.03.1996 г. № 305, от 05.07.2001 г. № 510, от 24.10.2005 г. № 639, от 21.06.2007 г. № 392, от 29.12.2007 г. № 969, от 12.09.2008 г. № 679, от 09.12.2010 г. № 1005, от 29.11.2011 г. № 988 и от 27.12.2012 г. № 1420.
2. Лякин А.С. Способы приведения в безопасное состояние территорий и объектов инфраструктуры при выводе из эксплуатации объекта по хранению и уничтожению химического оружия «Горный» (пос. Горный Саратовской области) // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 4. С. 17–20.
3. Филатов Б.Н., Британов Н.Г., Клаучек В.В., Крылова Н.В., Доброшенко Л.А. Гигиенические аспекты безопасности полигонов захоронения отходов от ликвидации объектов по уничтожению химического оружия // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 4. С. 104–109.
4. Методические рекомендации по оценке экологического состояния высвобождаемых промышленных площадок и разработке плана санации. Комитет по природопользованию, ООС и обеспечению экологической безопасности Правительства Санкт-Петербурга. СПб.: Российский геоэкологический центр. 2015. 53 с.
5. Липанов А.М., Петров В.Г., Трубочёв А.В. Решения по снижению количества и обезвреживанию промышленных отходов в Удмуртской Республике // Вести. ИжГТУ. 2006. № 4. С. 9–17.
6. Набокова О.С. Мероприятия на объектах по уничтожению химического оружия после решения конвенциональных задач / Вестник Удмуртского университета / Физика. Химия. Вып 2. 2011, С. 60–62.
7. Патент на изобретение РФ № 2211493. Способ электрокинетической очистки грунтов от радиоактивных и токсических веществ / А.С. Баринов, Л.Б. Прозоров, В.Б. Николаевский и др. / 27.08.2003.
8. Патент на изобретение РФ № 2231944. Способ биологической очистки почв / А.С. Лукаткин, Д.И. Башмаков / 10.07.2004.
9. Загребин Е.М., Соснов А.В., Садовников С.В., Землякова М.А., Пуцыкин Ю.Г., Шаповалов А.А. Новые высокотехнологичные сорбенты и сорбенто-биодеструкторы на основе гуминовых кислот в качестве

средств ремедиации и рекультивации загрязнённых почв // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 4. С. 21–29.

10. Ефременко Е.Н., Завьялова Н.В., Гудков Д.А., Лягин И.В., Сенько О.В., Гладченко М.А., Сироткина М.С., Холстов А.В., Варфоломеев С.Д., Холстов В.И. Экологически безопасная биodeградация реакционных масс, образующихся при уничтожении фосфорорганических отравляющих веществ // Российский химический журнал. 2010. № 4. С. 19–24.

11. Стяжкин К.К., Петров С.В., Туманов А.С., Завьялова Н.В., Воробьёв К.А., Тетерин В.В., Погорельский И.П., Лещенко А.А., Лазыкин А.Г., Менухова В.С. Биопрепарат для ремедиации почвы в пределах зоны защитных мероприятий объекта уничтожения химического оружия «Марадыковский» // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 4. С. 41–48.

12. Ашихмина Т.Я., Кондакова Л.В., Домрачева Л.И., Огородникова С.Ю. Метилфосфоновая кислота как регулятор биологических процессов в экологических системах: действие на микроорганизмы, ферментативную активность и высшие растения // Теоретическая и прикладная экология, 2007. № 2. С. 78–87.

13. Товстик Е.В., Огородникова С.Ю., Домнина Е.А., Широких И.Г. Динамика актиноциетных комплексов в почвах лесных фитоценозов вблизи объекта по уничтожению химического оружия «Марадыковский» // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 4. С. 88–92.

14. Коваль Е.В., Огородникова С.Ю. Влияние цианобактерии *Nostoc muscorum* на устойчивость растений ячменя к действию метилфосфоновой кислоты // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 2. С. 61–66.

15. Коваль Е.В., Огородникова С.Ю. Влияние цианобактерии *Nostoc linckia* на показатели жизнедея-

тельности растений ячменя, выращенных в модельных опытах в присутствии метилфосфоновой кислоты // Агрехимия. 2014. № 12. С. 65–70.

16. Растегаев О.Ю., Субботин В.Е., Ченцов А.М., Рыжков В.А. Практические направления экологической реабилитации почв при их химическом загрязнении // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 4. С. 30–33.

17. Патент на изобретение РФ № 2329882. Способ рекультивации земель / А.И. Иванов, П.А. Иванов, А.П. Стаценко / 20.06.2006.

18. Шевченко А.В., Никифоров Г. Е., Лякин А.С., Акишин Р.О., Ферезенов А.С. Научно-технические решения по санации загрязнённых территорий, зданий и сооружений при выводе объектов по хранению и уничтожению химического оружия из эксплуатации и их перепрофилирования // Российский хим. журнал (Ж. Рос. Хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). 2010. Т. LI. № 4. С. 77–79.

19. МР 45-12 «Осуществление Федерального государственного санитарно-эпидемиологического надзора при выводе из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности объектов по хранению и объектов по уничтожению химического оружия» (Утверждены и введены в действие заместителем ФМБА, Главным государственным санитарным врачом по обслуживаемым организациям и обслуживаемым территориям 21 сентября 2012 г.).

20. МР 46-12 «Организация санитарно-химического контроля за состоянием производственной и окружающей среды при выводе из эксплуатации объектов по хранению и объектов по уничтожению химического оружия» (Утверждены и введены в действие заместителем ФМБА, Главным государственным санитарным врачом по обслуживаемым организациям и обслуживаемым территориям 21 сентября 2012 г.).

Порядок проведения химико-токсикологического анализа биологических проб для установления факта воздействия отравляющих веществ на организм

© 2014. В. С. Романов¹, к.б.н., зам. нач. отдела, Е. В. Кинаш¹, к.х.н., нач. отдела, В. А. Берестов¹, с.н.с., Е. И. Савельева², д.х.н., зав. лабораторией, Н. Л. Корягина², к.х.н., в.н.с.,

¹Научно-исследовательский центр Федерального управления по безопасному хранению и уничтожению химического оружия,

²Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агентства, e-mail: fubhuho@mail.ru

Материал статьи включает порядок проведения химико-токсикологического анализа биологических проб (мочи, крови) с использованием методов хромато-масс-спектрометрии, высокоэффективной жидкостной хроматографии масс-спектрометрии. При определении метаболитов фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) маркерами экспозиции фосфорорганических отравляющих веществ являются сами фосфорорганические отравляющие вещества, реактивированные в цельной крови из состава белковых аддуктов, и их метаболиты O-алкилметилфосфонаты, которые могут быть обнаружены в крови и моче. При определении метаболитов отравляющих веществ кожно-нарывного (КНОВ) действия в биопробах маркерами сернистого иприта являются метаболиты: тиодигликоль, сульфид тиодигликоля, β-лиазные метаболиты; маркерами люизита являются метаболиты: 2-хлорвиниларсоновая кислота и 2-хлорвиниларсонистая кислота; маркерами экспозиции ипритно-люизитной смеси являются метаболиты люизита и сернистого иприта. Определены критерии идентификации результатов анализируемого вещества и стандартного образца. Предложены методы интерпретации результатов определения метаболитов типа ФОС и КНОВ в биопробах газохроматографическим методом с tandemным масс-селективным детектированием и методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием. Полученные в ходе хроматографического анализа биопроб результаты рекомендуется идентифицировать в соответствии с предложенными требованиями.

The paper includes a procedure for chemical-toxicological analysis of biological samples (urine, blood) using gas chromatography-mass spectrometry, high performance liquid chromatography mass spectrometry. In detecting the metabolites of organophosphorus chemical agents (OCA), the markers of exposure organophosphorus agents are represented by organophosphorus poisons reactivated in whole blood from the protein adducts, as well as by their metabolites, O-alkylmethylphosphonates, which can be detected in blood and urine. In determining the metabolites of blister-causing toxic substances (KNOV) in bioassays it was stated that the markers of sulfur mustard are such metabolites as thiodiglycol sulfide, thiodiglycol, β-lyase metabolites; the markers of lewisite are the metabolites 2-vinylchloridearsonic acid and 2-vinylchloridearsonous acid; the exposure markers of mustard-lewisite mixtures are metabolites of sulfur mustard and lewisite. The criteria of result identification of the analyzed sample and the standard sample are stated. The methods of interpreting the results of detecting metabolites of the types FOS and KNOV in bioassays using gas chromatography with tandem mass-selective detection and high-performance liquid chromatography (HPLC) with tandem mass spectrometric detection are suggested. We recommend to identify the results obtained during chromatographic analysis of bioassay in accordance with the suggested requirements.

Ключевые слова: хроматографический анализ, идентификация, маркеры, метаболиты.

Keywords: chromatographic analysis, identification, markers, metabolites.

Целью химико-токсикологического анализа биологических проб является достоверная идентификация метаболитов – маркеров отравляющих веществ (ОВ) в биопробах человека и животных (моче, цельной крови, плазме крови, сыворотке) методами хромато-масс-спектрометрии (метод газовой хроматографии масс-спектрометрии (ГХ-МС)) и методом высокоэффективной жидкостной хроматографии масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС).

Для однозначной идентификации биомаркеров необходимо соблюдение критериев, разработанных Европейской комиссией (ЕС), Управлением по контролю продуктов и лекарств США (FDA), Всемирным антидопинговым агентством (WADA) [1,2]:

– достоверность уменьшается в следующем порядке: SCAN (масс-спектр полного сканирования) > MRM (режим мониторинга нескольких реакций), HRSIM (селективное

ионное детектирование в режиме высокого разрешения) > SIM (селективное ионное детектирование в режиме низкого разрешения);

- наличие как минимум двух фрагментаций в режиме MRM и трёх характеристичных ионов для режима SIM;

- переходы/ионы должны структурно характеризовать искомое вещество, а также желательным иметь принадлежность к различным частям молекулы аналита;

- идентификацию проводить независимыми методами (не менее двух), например, использовать два вида производных при анализе методом ГХ-МС, либо подтвердить данные ГХ-МС данными ВЭЖХ-МС;

- кроме хроматограмм исследуемых проб, лаборатории должны предоставлять хроматограммы холостой пробы.

При проведении химико-токсикологического анализа рекомендуется в отсутствии априорной информации об ОВ, в отношении возможного применения которого проводится исследование, каждую пробу проверять на содержание метаболитов всех ОВ.

ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России в рамках научно-исследовательской работы «Проба-КХ» разработаны стандартные процедуры для определения метаболитов ОВ в биопробах (кровь, моча) [3].

Для получения надёжных достоверных результатов анализа соблюдают следующий протокол анализа проб: 1 – анализ бланковой (контрольной) биопробы, заведомо не содержащей определяемых веществ после полной процедуры пробоподготовки; 2 – анализ исследуемой биопробы; 3 – анализ образца сравнения

для подтверждения идентификации (добавка стандарта определяемого соединения в исследуемый образец или в бланковый образец).

При определении метаболитов фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) зарин (О-изопропилметилфторфосфонат); зоман (О-пинаколилметилфторфосфонат); RVX (О-изобутил-S-(2-диэтиламиноэтил) метилтиофосфонат); Vx (О-этил-S-(2-диизопропиламиноэтил) метилтиофосфонат) нервно-паралитического действия в биопробах необходимо учитывать, что маркерами экспозиции ФОВ являются сами ФОВ, реактивированные в цельной крови (сыворотке, плазме крови) из состава белковых аддуктов и их метаболиты – О-алкилметилфосфонаты (О-АМФК), которые могут быть обнаружены как в крови, так и в моче:

- О-изопропилметилфосфонат (О-ИПМФК) (метаболит зарина);

- О-пинаколилметилфосфонат (О-ПМФК) (метаболит зомана);

- О-этилметилфосфонат (О-ЭМФК) (метаболит ОВ типа Vx);

- О-изобутилметилфосфонат (О-ИБМФК) (метаболит RVx);

- метилфосфоновая кислота (МФК) (продукт метаболизма всех ФОВ) [4].

В таблице 1 представлена характеристика стандартных процедур, рекомендуемых для определения метаболитов ФОВ в биопробах [3].

Кроме того, проводилось определение метаболитов ОВ кожно-нарывного действия в биопробах.

Сернистый иприт [бис(2-хлорэтил)сульфид], люизит (2-хлорвинилдихлорарсин) и

Таблица 1

Характеристика стандартных процедур, рекомендуемых для определения метаболитов ФОВ в биопробах

Название стандартных процедур	Предел обнаружения	Краткое содержание стандартных процедур
Стандартная процедура определения О-алкилметилфосфонатов в моче методом ВЭЖХ-МС/МС	О-ЭМФК, О-ИПМФК, О-ИБМФК – 1,0 нг/мл О-ПМФК – 0,1 нг/мл	Фильтрация мочи. ВЭЖХ-МС/МС анализ.
Стандартная процедура установления факта воздействия зомана и зарина на организм по результатам анализа крови (цельной крови, сыворотки, плазмы крови) ГХ-МС анализа в режиме высокого разрешения	зарина – 0,1 нг/мл зомана – 0,1 нг/мл	Реактивирование зомана из состава белковых аддуктов КФ в ацетатном буфере до высвобождения свободного зомана, извлечение зомана методом ТФЭ. ГХ-МС анализ в режиме высокого разрешения.
Стандартная процедура определения О-алкилметилфосфонатов в моче и плазме крови методом ГХ-МС/МС	О-ЭМФК, О-ИПМФК, О-ИБМФК, О-ПМФК – 0,1 нг/мл.	Экстракция из мочи (крови) смесью органических растворителей, дериватизация C ₆ F ₅ CH ₂ Br. ГХ-МС/МС анализ.

ипритно-люизитная смесь являются наиболее известными боевыми ОВ кожно-нарывного действия.

Маркерами экспозиции сернистого иприта (СИ) являются метаболиты: тиодигликоль (ТДГ); тиодигликольсульфоксид (ТДГО); β-лиазные метаболиты: 1,1'-сульфонилбис [2-(метилсульфинил)этан] и 1-метилсульфинил-2-[(метилтио)этилсульфонил]этан; 1,1ϕ-сульфонилбис [2-S-(N-ацетилцистеинил)этан] [4].

Маркерами экспозиции люизита являются метаболиты: 2-хлорвиниларсонистая кислота (ХВАК), 2-хлорвиниларсоновая кислота (ХВАОК) [4].

Маркерами экспозиции ипритно-люизитной смеси (ИЛС) являются метаболиты люизита и СИ. При хранении биопроб при комнатной температуре происходит разложение ХВАК и ХВАОК. Биопробы, отобранные для исследования, должны быть незамедлительно подвергнуты заморозке (-18-20°C).

В таблице 2 представлена характеристика стандартных процедур определения метаболитов

КНОВ, рекомендуемых к применению для установления факта поражения КНОВ [3].

При интерпретации и выдаче результатов анализа рекомендуются следующие критерии идентификации:

- время удерживания (сек., мин.);
- расхождение в значениях относительных интенсивностей ионов в регистрируемом диапазоне масс между масс-спектрами анализируемого вещества и стандартного образца (%).

Критерием надёжной идентификации является детектирование сигнала с соотношением сигнал: шум не менее 3:1 при времени удерживания, совпадающем в пределах 0,2 мин. со временем удерживания, установленным для стандартного образца. Для надёжной идентификации требуется совпадение масс-спектров (МС/МС-переходов) с масс-спектром (МС/МС-переходом) стандартного образца, полученными в аналогичных условиях.

При невыполнении хотя бы одного из критериев результат идентификации не может считаться достоверным.

Таблица 2

Характеристика стандартных процедур определения метаболитов КНОВ, рекомендуемых к применению для установления факта поражения КНОВ

Название стандартных процедур	Предел обнаружения, нг/см ³	Краткое содержание стандартных процедур
Стандартная процедура определения АЦЦ-СИ в моче методом ВЭЖХ-МС	1	Разбавление пробы мочи органическим растворителем; удаление взвешенных частиц центрифугированием; анализ супернатанта ВЭЖХ-МС высокого разрешения.
Стандартная процедура определения метаболитов сернистого иприта (тиодигликоля, тиодигликольсульфоксида, β-лиазных метаболитов СИ) в моче ГХ-МС/МС	1	Обработка образца мочи (1–10) мл с солянокислым раствором хлорида титана при 75°C (1 час), нейтрализация 10М раствором NaOH, центрифугирование. ТФЭ надосадочной жидкости на сорбенте Oasis HLB. Элюирование ТДГ ацетонитрилом. Разделение элюата на 2 части, дериватизация ГФМА и ПФБХл. ГХ-МС/МС-ХИ анализ в режиме MRM.
Стандартная процедура идентификации 2-хлорвиниларсонистой кислоты – метаболита люизита в биопробах ГХ-МС/МС	0,1 (в моче) 10 (в крови)	Дериватизация ХВАК 1,3-пропандитиолом в биопробе с последующим извлечением летучего циклического производного на микроволокно и определением методом ГХ-МС/МС-ЭУ. Полуколичественную оценку проводят по внутреннему стандарту фениларсиноксиду, который вносят в биопробу перед анализом.
Стандартная процедура определения 2-хлорвиниларсонистой кислоты в моче методом ВЭЖХ-МС/МС	0,5	Очистка мочи методом ТФЭ. Детектирование анализируемых веществ проводят прямым методом, регистрируя интенсивность характеристичных ионных переходов.
Стандартная процедура определения 2-хлорвиниларсоновой кислоты в моче методом ВЭЖХ-МС/МС	2,0	Очистка мочи методом ТФЭ. Детектирование анализируемых веществ проводят прямым методом, регистрируя интенсивность характеристичных ионных переходов.

Для подтверждения результатов идентификации применяют метод добавок. К исследуемой пробе прибавляют известное количество стандарта определяемого вещества, не превышающее содержание аналита в анализируемой пробе (оценивают ориентировочно по площади хроматографического пика аналита на хроматограмме) и сравнивают хроматограммы без добавки и с добавкой. В случае увеличения площади пика определяемого соединения и совпадения масс-спектров (МС/МС-спектров) до и после внесения добавки результат идентификации признается положительным.

По результатам химико-токсикологического анализа биопроб, отобранных в течение первых 3 суток после отравления, могут быть вынесены суждения о типе отравления:

- резкое снижение содержания метаболитов в биопробе на 2-е сутки после отравления указывает на острое отравление;
- содержание метаболитов во всех представленных пробах, отобранных в течение 3 суток, примерно на одном уровне ($\pm 20\%$) указывает на хроническое отравление или острое отравление, которое было в прошлом.

Неопровержимым доказательством контакта человека или животных с ФОВ является положительный результат, полученный при реализации «Стандартной процедуры установления факта воздействия зомана и зарина на организм по результатам анализа крови (цельной крови, сыворотки, плазмы крови) хромато-масс-спектрометрическим методом в режиме высокого разрешения». В данном случае установление факта воздействия ФОВ проводят по определению самих ФОВ (зарина, зомана, RVX), полученных в результате реактивирования ФОВ из состава белковых аддуктов.

Положительный результат, полученный при реализации «Стандартной процедуры определения О-алкилметилфосфонатов в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-селективным детектированием» и «Стандартной процедуры определения О-алкилметилфосфонатов в моче и плазме крови методом газовой хроматографии с применением тандемного масс-селективного детектирования», может служить как свидетельством возможного прямого контакта человека или животных с ФОВ, так и результатом попадания в организм непосредственно самого определяемого вещества с воздухом, водой или продуктами питания, содержащими продукты деструкции ФОВ.

Неопровержимое доказательство контакта человека или животных с СИ – положительный результат, полученный при определении β -лиазных метаболитов СИ и (или) 1,1 ζ -сульфонилбис[2-S-(N-ацетилцистеинил)этана] (АЦЦ-СИ) в моче в рамках реализации «Стандартной процедуры определения метаболитов сернистого иприта (тиодигликоля, тиодигликольсульфоксида, β -лиазных метаболитов СИ) в моче газохроматографическим методом с тандемным масс-селективным детектированием» и «Стандартной процедуры определения АЦЦ-СИ в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией высокого разрешения».

Не является неопровержимым доказательством контакта человека или животных с СИ обнаружение в биопробах ТДГ и ТДГО (продукта окисления ТДГ в организме) при реализации «Стандартной процедуры определения метаболитов сернистого иприта (тиодигликоля, тиодигликольсульфоксида, β -лиазных метаболитов СИ) в моче газохроматографическим методом с тандемным масс-селективным детектированием», поскольку ТДГ может поступать в организм человека из других источников. В частности, ТДГ может присутствовать в лакокрасочных покрытиях, полимерных и фотографических материалах, чернилах и других материалах. Фоновые содержания ТДГ и ТДГО в моче людей варьируют в пределах 1–36 и 1–25 нг/мл, соответственно. В то же время обнаружение ТДГ и/или ТДГО в биопробах является свидетельством возможного контакта человека с СИ и влечёт за собой необходимость дальнейшего анализа биопроб на более специфичные маркеры воздействия (АЦЦ-СИ, β -лиазных метаболитов СИ).

Неопровержимым доказательством контакта человека или животных с люизитом является обнаружение его метаболитов – 2-хлорвиниларсоновой и 2-хлорвиниларсонистой кислот в биожидкостях организма в любой концентрации в рамках реализации «Стандартной процедуры идентификации 2-хлорвиниларсонистой кислоты – метаболита люизита в биопробах газохроматографическим методом с тандемным масс-селективным детектированием», «Стандартной процедуры определения 2-хлорвиниларсонистой кислоты в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием» и (или) «Стандартной процедуры опреде-

ления 2-хлорвиниларсоновой кислоты в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием».

Моча является универсальной и наиболее предпочтительной матрицей для определения биомаркера люизита. Проведение антидотной терапии унитиолом существенно меняет профиль экскреции 2-хлорвиниларсонистой кислоты в течение первых суток после введения антидота. За счёт более активной экскреции и перераспределения гидрофильного комплекса биомаркера люизита с унитиолом из тканей в кровотоке антидотная терапия повышает возможность обнаружения 2-хлорвиниларсонистой кислоты в моче в течение 2 суток после введения унитиола. При этом содержание биомаркера люизита в цельной крови (эритроцитах) снижается. Кровь (эритроциты) является перспективной матрицей для подтверждения результатов, полученных при анализе мочи. Плазма крови является бесперспективной матрицей для установления факта воздействия люизита ввиду весьма низких концентраций биомаркера.

Неопровержимым доказательством контакта человека или животных с ИЛС является одновременное обнаружение в биопробах метаболитов СИ и люизита. Наличие в биопробах метаболитов СИ не мешает идентификации метаболитов люизита, и эти соединения могут быть достоверно идентифицированы в ходе параллельных определений.

По результатам ХТА оформляется протокол ХТА. Форма протокола ХТА регламентируется «Руководством по качеству аккредитованной лаборатории».

Обязательным приложением к протоколу ХТА являются материалы, полученные при

хроматографическом анализе биопроб, подтверждающие результаты идентификации:

- хроматограмма бланкового образца (биопробы), заведомо не содержащего определяемое вещество, после полной процедуры пробоподготовки (не должна содержать пиков посторонних соединений на профиле хроматограммы в местах ожидаемого выхода целевых соединений);
- хроматограмма исследуемого образца биопробы;
- хроматограмма образца сравнения для подтверждения идентификации (добавка стандарта определяемого соединения в исследуемый образец или в бланковый образец биопробы).

Литература

1. Report of the Fourteenth Session of the Scientific Advisory Board (Отчёт 14 сессии Научного консультативного комитета), SAB-14/1, Гаага, Нидерланды. 9–11 ноября 2009 г.
2. Report of the Sixteenth Meeting of the of the Scientific Advisory Board (Отчёт 16 сессии Научного консультативного комитета), SAB-16/1, Гаага, Нидерланды. 18–19 ноября 2010 г.
3. Отчёт о научно-исследовательской работе «Разработка методов анализа продуктов распада отравляющих веществ в биосфере в целях подготовки участия России, в соответствии со статьёй IX Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожения, в расследованиях случаев возможного применения химического оружия». Шифр «Проба-КХ». 2012. 43 с.
4. Рыбальченко И.В., Хлебникова Н.С., Савельева Е.И., Газохроматографический анализ биологических проб. Определение метаболитов токсичных химикатов // Российский химический журнал. 2005. № 2. С. 26–30.

УДК 614.7:623.459:613.6

**Медико-гигиенические аспекты обеспечения безопасности
персонала объектов по уничтожению химического оружия**

© 2014. Б. Н. Филатов, д.м.н., директор, В. В. Клаучек, д.м.н., зам. директора,
Н. Г. Британов, к.м.н., зав. лабораторией, Н. В. Крылова, к.б.н., в.н.с.,
Л. А. Доброшенко, с.н.с., А. С. Фролов, к.м.н., зав. отделом,
Т. А. Чарова, д.м.н., зав. отделением, Т. Я. Дворчик к.м.н., зав. лабораторией,
Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии
и профпатологии Федерального медико-биологического агентства,
e-mail: filatov@rihtop.ru

Проведена сравнительная гигиеническая оценка условий труда персонала объектов по хранению и уничтожению химического оружия за период 2008–2014 гг. Впервые выполнены комплексные исследования динамических показателей состояния здоровья персонала объектов хранения и уничтожения химического оружия по результатам до- и послесменных медицинских осмотров, периодических медицинских осмотров, результатов углублённых медицинских осмотров с выполнением расширенного спектра биохимических, иммунологических, психофизиологических исследований, изучением гормонального фона, онкомаркеров, определения содержания мышьяка в биосредах. Осуществлена экспертиза причинно-следственной связи выявленной патологии и сложных случаев профпригодности для продолжения работы с вредными и опасными условиями труда у работников указанных объектов с выявленной патологией. Проведено стационарное обследование работников, входящих в «группу риска» в профпатологическом отделении Центра профпатологии по проблемам воздействия на организм человека особо опасных химических факторов и отдалённых последствий их воздействия (г. Волгоград).

The comparative sanitary assessment of working conditions of chemical weapons destruction plants' personnel was made in 2008–2014. For the first time the dynamic indicators of the personnel's health at chemical weapons storage and destruction plants were studied in complex, based on medical examinations results before and after working shift, on results of periodic medical examinations, results of thorough medical examinations with a whole set of biochemical, immunological, psycho-physiological analyses, studying endocrine profile, cancer-specific markers, determination of arsenic content in biological media. The expertise was carried out of cause-and-effect relationship between the pathology identified and complicated cases of health status as for the ability to continue work in harmful and dangerous conditions for workers with the pathology identified. Hospital examination of workers belonging to «risk group» was made in the Occupational Pathology Department of the Pathology Center of the Effect of Extremely Hazardous Chemical Factors on Human Body and Long-Term Effects of the Effects (Volograd City).

Ключевые слова: объекты уничтожения химического оружия, отравляющие вещества, санитарно-гигиеническая оценка, условия труда, медицинские осмотры, профессиональные заболевания.

Keywords: chemical weapons destruction plants, poison substances, sanitary and hygienic assessment, working conditions, medical examinations, occupational diseases.

Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения является приоритетной задачей при проведении работ по хранению, уничтожению высокотоксичных отравляющих веществ и последующей поэтапной ликвидации или перепрофилированию бывших объектов по хранению и уничтожению химического оружия [1–3]. Поскольку в процессе уничтожения химического оружия имеется риск возникновения аварийных ситуаций, а также не исключена возможность присутствия в атмосфере производственных помещений низких концентраций отравляющих веществ и продуктов их деструкции, то

подобные предприятия относятся к категории потенциально опасных, а их обслуживающий персонал – к особой группе работников профессий повышенного риска. Исходя из этого, организация и совершенствование системы медицинского обеспечения работ на объектах по уничтожению химического оружия направлены, в первую очередь, на контроль за условиями труда персонала, состоянием здоровья работников, диагностику поражения промышленными токсикантами и раннее выявление как профессиональных заболеваний, так и общесоматической патологии, препятствующей продолжению работы в контакте с

вредными и опасными условиями труда. Для обеспечения безопасного проведения работ научно-исследовательскими институтами Федерального медико-биологического агентства России была разработана нормативно-методическая база, включающая в себя санитарно-эпидемиологические требования, гигиенические нормативы, санитарные правила и методические рекомендации, а также определён перечень загрязняющих веществ, подлежащих контролю в объектах производственной и окружающей среды [4–9].

Поэтапное завершение работ по уничтожению химического оружия обусловило появление новой проблемы, связанной с ликвидацией или конверсией бывших производств по хранению и уничтожению химического оружия [10]. Организация санитарно-эпидемиологического надзора при выводе из эксплуатации объектов по хранению и уничтожению химического оружия также предусматривает решение сложного комплекса задач по обеспечению безопасности для персонала, населения и окружающей среды [11].

Сохранение здоровья персонала и населения, снижение риска изменений в экологических системах за годы функционирования объектов, научное обоснование подходов к проведению конверсионных работ на бывших объектах по хранению и уничтожению химического оружия и рационального землепользования на территории их расположения, осуществление санитарного-эпидемиологического надзора и контроля на объектах и в зонах их влияния являются актуальными медико-гигиеническими проблемами [12–14]. Совершенствование системы медицинского слежения за здоровьем работников объекта с применением современных методов клинической, функциональной и лабораторной диагностики позволит предупредить профессиональные заболевания и решить экспертные вопросы профессиональной патологии.

В период эксплуатации и ликвидации объектов по хранению и уничтожению химического оружия персонал может контактировать как с отравляющими веществами и продуктами их деструкции, так и с общепромышленными загрязнителями. Кроме того, не исключено негативное влияние на состояние здоровья персонала факторов, связанных с использованием средств индивидуальной защиты, неблагоприятных микроклиматических параметров, повышенной тяжести и напряжённости трудового процесса при выполнении опасных операций [15].

Уничтожение химического оружия на всех объектах проводится с использованием современного высокопроизводительного автоматизированного технологического процесса и соблюдением необходимых требований безопасности персонала.

В соответствии с разработанными проектами, прошедшими санитарно-эпидемиологическую экспертную оценку в научно-исследовательских институтах гигиенического профиля ФМБА России, на всех объектах по уничтожению химического оружия предусмотрены современные объёмно-планировочные, инженерные, технические, технологические и организационные решения, обеспечивающие в сочетании с действующими системами производственного и экологического контроля безопасность работ [9, 16]. На всех предприятиях использованы двухстадийные технологии уничтожения химического оружия, предусматривающие химическую деструкцию отравляющего вещества при взаимодействии его с дегазирующим реагентом и переработкой полученных реакционных масс в нетоксичные продукты с последующим их захоронением на специальных полигонах или утилизацией в продукты, пригодные для народнохозяйственной деятельности.

Организация технологических процессов по расснаряжению боеприпасов, содержащих химическое оружие, детоксикации отравляющих веществ, переработке реакционных масс, утилизации отходов направлена на исключение контакта обслуживающего персонала с вредными веществами, предусматривает использование автоматизации, дистанционного управления, механизации, герметизации оборудования и коммуникаций. Технологические потоки автоматизированы в сочетании с диспетчерскими функциями персонала, осуществляемыми с центрального пункта управления.

Разработаны санитарно-эпидемиологические мероприятия по обеспечению безопасности персонала, населения и окружающей среды при выполнении основных технологических процессов уничтожения химического оружия, выводу из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности объектов по хранению и уничтожению химического оружия, а также при обращении с образующимися отходами. Определены критерии опасности производственных помещений, обоснованы требования к организации санитарно-химического контроля за производственной и окружающей средой, а также к средствам коллективной и индивидуальной защиты персонала. Условием

санитарно-эпидемиологической безопасности является обеспечение достаточного количества санитарно-бытовых помещений для персонала и правильное их оборудование, в том числе по типу «санпропускника», качественным медицинским контролем за работающими в помещениях I и II групп (предварительные и периодические, до- и послесменные медицинские осмотры).

На объектах по хранению и уничтожению химического оружия осуществляется эффективный производственный и санитарный контроль за загрязнённостью объектов производственной среды приоритетными токсикантами на рабочих местах персонала, включая системы непрерывного автоматического контроля за содержанием отравляющих веществ в воздухе рабочей зоны. Отбор проб отравляющих веществ, реакционной массы и токсичных продуктов в помещениях I и II группы осуществляется с помощью автоматизированной системы «Транспортёр» с доставкой в лабораторию пневмопочтой, что исключает возможность контакта обслуживающего персонала с отбираемой средой. Производственные помещения оборудованы системами приточно-вытяжной вентиляции. Персонал производственных помещений обеспечен необходимым набором средств индивидуальной защиты и спецодеждой в соответствии с группой опасности помещения, характером и условиями выполняемой работы.

Обоснованные и утверждённые гигиенические стандарты безопасности и аттестованные методики измерения отравляющих веществ в объектах производственной среды позволяют осуществлять оценку степени опасности загрязнения токсичными веществами, контролировать эффективность дегазации, а также проводить другие профилактические мероприятия.

Разработанные нормативно-методические документы, гигиенические нормативы и методики измерений концентраций отравляющих веществ, направленные на осуществление федерального государственного санитарно-эпидемиологического надзора и организацию санитарно-химического контроля, позволяют обеспечить санитарно-эпидемиологическую безопасность персонала объектов по хранению и уничтожению химического оружия.

Санитарно-гигиеническая оценка состояния условий труда персонала объектов по уничтожению химического оружия на основе многолетних наблюдений (2008–2014 гг.) свидетельствует о том, что содержание отрав-

ляющих веществ и продуктов их деструкции в объектах производственной среды и промплощадки предприятий не превышало нормативные значения, а условия труда на основных рабочих местах характеризовались, в основном, по химическому фактору как допустимые (2 класс).

В воздухе рабочей зоны, а также на поверхностях технологического оборудования и строительных конструкций производственных помещений основных корпусов и на промышленной площадке бывшего объекта по уничтожению химического оружия «Горный» (пос. Горный Саратовской области) иприт, люизит, мышьяк и другие подлежащие контролю химические вещества, как правило, не обнаруживались. При исследованиях загрязнённости производственной среды до проведения дегазационных мероприятий перед проведением монтажных работ в единичных случаях было зарегистрировано содержание люизита и мышьяка на поверхностях технологического оборудования, строительных конструкций и бочек на уровне от 1,8 до 2,4 ПДУ и от 1,2 до 6,0 ПДУ, соответственно. При повторных исследованиях после дегазации превышений допустимых уровней обнаружено не было.

Химико-аналитический контроль состояния производственной среды на различных этапах ликвидационных работ на объекте «Горный» показал отсутствие загрязнённости ипритом, люизитом и мышьяком элементов технологического оборудования, строительных конструкций и материалов, а также воздуха бывших производственных помещений объекта по уничтожению химического оружия «Горный».

На объекте по уничтожению химического оружия «Камбарка» за период наблюдений, как правило, не регистрировались загрязнения воздуха рабочей зоны, различных поверхностей оборудования, строительных конструкций, кожных покровов и средств индивидуальной защиты персонала приоритетными токсикантами выше допустимых уровней, в том числе люизитом и мышьяком. В воздухе, почве, снеге, воде из наблюдательных скважин и ливневой канализации промышленной площадки указанного объекта содержание мышьяка, моноэтаноламина, люизита и общепромышленных загрязнителей не превышало ПДК или было ниже чувствительности методов определения.

На объекте по уничтожению химического оружия «Кизнер», введённого в строй в декабре 2013 года, отравляющие вещества и про-

дукты их деструкции в атмосферном воздухе, снежном покрове и почве на его территории не обнаруживались. Содержание тяжёлых металлов (цинка, кадмия, свинца, меди), мышьяка и бенз(а)пирена в почве на территории промплощадки не превышало предельно допустимых концентраций.

Содержание зарина, вещества типа Vx, N-метилпирролидона, изобутилового спирта и свинца в воздухе рабочей зоны, на поверхностях технологического оборудования и строительных конструкций объекта «Почеп» не превышали гигиенических нормативов. Свинец, бенз(а)пирен, N-метилпирролидон, Vx, изобутиловый спирт, O-изобутилметилфосфонат и метилфосфоновая кислота на территории промышленной площадки в концентрациях, превышающих гигиенические нормативы, не обнаружены.

На объекте по хранению и уничтожению химического оружия «Щучье» содержание зарина, зомана, моноэтаноламина, изопропилового спирта, пинаколинового спирта, фтористого водорода в воздухе рабочей зоны в основном не обнаруживались. Отмечались превышения ПДК в питьевой воде по содержанию бора (до 3,0 ПДК), железа (до 1,8 ПДК), марганца (до 2,3 ПДК).

На объекте по хранению и уничтожению химического оружия «Марадыковский» концентрации приоритетных загрязняющих веществ в воздухе рабочей зоны и на поверхностях производственной среды не превышали, в основном, гигиенических нормативов.

На объекте по хранению и уничтожению химического оружия «Леонидовка» содержание отравляющих веществ и общепромышленных загрязнителей в воздухе рабочей зоны объекта, в основном, соответствовало гигиеническим нормативам. В смывах с поверхностей технологического оборудования, строительных конструкций, средств индивидуальной защиты и кожных покровов персонала также, в большинстве случаев, содержание зомана, зарина и Ви-икс не превышало допустимых уровней. В почве промышленной площадки не обнаруживались отравляющие и общепромышленные загрязняющие вещества в концентрациях, превышающих нормативные значения.

В ходе эксплуатации объектов по хранению и уничтожению химического оружия была создана и показала свою эффективность система медицинского сопровождения функционирования объектов. Мониторинг состояния здоровья персонала объектов осу-

ществляется на разных уровнях специалистами объектовых поликлиник, стационаров медицинских учреждений системы ФМБА России, сотрудников ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России, ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, Центра профпатологии по проблемам воздействия на организм человека особо опасных химических факторов и отдалённых последствий их воздействия (г. Волгоград).

Разработана и утверждена инструктивно-методическая документация, регламентирующая организацию экстренной и плановой медицинской помощи, проведение предварительных, периодических, до- и послесменных медицинских осмотров лиц, занятых на работах по уничтожению химического оружия, решение экспертных вопросов.

На базе профильных институтов ФМБА, Центра профпатологии созданы две токсикологические бригады для оказания консультативно-диагностической и лечебной помощи пострадавшим при острых производственных отравлениях персонала объектов. Эффективность работы бригад подтверждена при выездах специалистов на случаи острых производственных отравлений работников объектов.

За всё время функционирования объектов уничтожения химического оружия зафиксировано 9 случаев острых производственных отравлений лёгкой степени. После проведения лечебно-реабилитационных мероприятий у пострадавших полностью восстановлена трудоспособность.

Случаев хронической интоксикации отравляющими веществами не зарегистрировано, что является результатом совместной работы проектировщиков, технологов и гигиенистов, профпатологов и отличает данные предприятия от других химических производств.

Анализ результатов медицинского наблюдения за состоянием здоровья персонала объектов при проведении до- и послесменных осмотров, предварительных и периодических медицинских осмотров, углублённых медицинских осмотров позволили выявить группу лиц с неустойчивой адаптацией организма к работе в экстремальных условиях, требующих диспансерного наблюдения и решения вопросов профпригодности.

Лицам, нуждающимся в динамическом медицинском наблюдении, проводятся дополнительные клинико-инструментальные, биохимические и иммунологические исследования, при необходимости даются лечебные

рекомендации, разрабатываются индивидуальные реабилитационные мероприятия с последующим решением вопросов профпригодности.

Таким образом, содержание отравляющих веществ и продуктов их деструкции в объектах производственной среды и на промплощадках предприятий не превышало нормативные значения, а условия труда на основных рабочих местах на протяжении многолетнего периода наблюдений (2008–2014 гг.) характеризовались по химическому фактору, в основном, как допустимые (2 класс). Уничтожение химического оружия на всех объектах проводится с использованием современного автоматизированного технологического процесса и соблюдением необходимых требований безопасности персонала. Осуществляется эффективный производственный и санитарный контроль за загрязненностью объектов производственной среды приоритетными токсикантами. Разработаны и внедрены соответствующие санитарно-эпидемиологические мероприятия для снижения негативного воздействия вредных и опасных факторов рабочей среды на здоровье персонала объектов. Разработанные нормативно-методические документы, гигиенические нормативы и методики измерений концентраций отравляющих веществ, направленные на осуществление федерального государственного санитарно-эпидемиологического надзора и организацию санитарно-химического контроля, позволяют обеспечить санитарно-эпидемиологическую безопасность персонала объектов по хранению и уничтожению химического оружия, а медицинские мероприятия – сохранить здоровье.

Литература

1. Федеральная целевая программа «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации». Утверждена Постановлением Правительства РФ от 21.03.1996 № 305 (ред. от 27.12.2012).
2. Федеральный закон от 02.05.1997 № 76-ФЗ (ред. от 14.10.2014) «Об уничтожении химического оружия».
3. Конвенция о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении (Заключена в г. Париже 13.01.1993).
4. СП 2.2.1.2513-09. Гигиенические требования к размещению, проектированию, строительству, эксплуатации и перепрофилированию объектов по уничтожению химического оружия, реконструкции зданий и сооружений и выводу из эксплуатации объектов по хранению химического оружия. Санитарные правила : утв. Гл. гос. сан. врачом 18.05.2009 : введены в действие 19.07.2009.
5. МР 45–12. Осуществление федерального государственного санитарно-эпидемиологического надзора при выводе из эксплуатации и ликвидации последствий деятельности объектов по хранению и объектов по уничтожению химического оружия. Методические рекомендации : утв. зам. руководителя Федерального медико-биологического агентства, Гл. гос. сан. врачом по обслуживаемым организациям и обслуживаемым территориям 21.09.2012 : введены в действие с 21.09.2012.
6. МР 46–12. Организация санитарно-химического контроля за состоянием производственной и окружающей среды при выводе из эксплуатации объектов по хранению и объектов по уничтожению химического оружия. Методические рекомендации : утв. зам. руководителя Федерального медико-биологического агентства, Гл. гос. сан. врачом по обслуживаемым организациям и обслуживаемым территориям 21.09.2012 : введены в действие с 21.09.2012.
7. МР 2.2.1.031–14. Санитарно-эпидемиологический надзор за полигонами захоронения отходов объектов по уничтожению химического оружия. Методические рекомендации : утв. и введ. в действие зам. руководителя Федерального медико-биологического агентства, Гл. гос. сан. врачом по обслуживаемым организациям и обслуживаемым территориям 03.04.2014.
8. Перечень необходимого нормативно-методического обеспечения эксплуатации действующих объектов по уничтожению химического оружия и работ по их безопасному выводу из эксплуатации : утв. Гл. гос. сан. врачом по обслуживаемым организациям и обслуживаемым территориям 27.03.2009 : утв. дир. Департамента реализации конвенционных обязательств М-ва промышленности и торговли РФ 7.04.2009.
9. Капашин В. П., Поляков А. И., Круглов В. А. Обеспечение экологической и промышленной безопасности объектов по уничтожению химического оружия // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 4. С. 10–18.
10. Холстов В. И. Итоги реализации Федеральной целевой программы «Уничтожение запасов химического оружия в РФ» в преддверии 2014 года // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 4. С. 6–7.
11. Филатов Б. Н., Британов Н. Г., Клаучек В. В. Санитарно-гигиенические проблемы конверсии объектов хранения и уничтожения химического оружия в России // Медицинская наука и практика. 2009. № 1. С. 47–50.
12. Филатов Б. Н., Британов Н. Г., Клаучек В. В. Организация медико-санитарного обеспечения объектов уничтожения химического оружия в различные периоды их функционирования // Медицина экстремальных ситуаций. 2006. № 4(18). С. 8–15.
13. Филатов Б. Н., Британов Н. Г., Клаучек В. В., Романов В. В. Система санитарно-эпидемиологического надзора в различные периоды функционирования объектов по уничтожения химического оружия // Актуальные проблемы химической безопасности в Российской Федерации.

Федерации: сб. трудов Всерос. науч.-практ. конф., посвящённой 45-летию ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России (Санкт-Петербург, 15–16 февраля 2007 г.). СПб., 2007. С. 60–62.

14. Уйба В. В., Филатов Б. Н., Клаучек В. В., Британов Н. Г. Основные направления работ в области гигиенического обеспечения процесса уничтожения химического оружия // Российский химический журнал. 2007. Т. LI, № 2. С. 86–91.

15. Основы безопасности, профессиональной и экологической медицины при уничтожении химического оружия в России. Руководство для врачей / Под общ. ред. А. А. Каспарова, В. Д. Ревы, В. В. Уйбы. М.: ФГОУ ИПК ФМБА России, 2008. 744 с.

16. Капашин В. П., Назаров В. Д. Российские объекты по уничтожению химического оружия. Организация деятельности объектов // Российский химический журнал. 2010. Т. LIV, № 4. С. 10–12.

Динамика зообентоса озёр зоны защитных мероприятий объекта по уничтожению химического оружия в г. Щучье как метод биологического мониторинга

© 2014. Д. Д. Алексеус¹, соискатель учёной степени; О. В. Козлов², д.б.н., профессор, зав. кафедрой зоологии и биоэкологии; О. М. Плотникова^{1,2}, д.б.н., г.н.с.¹, профессор кафедры физической и прикладной химии²,

¹Региональный Центр по обеспечению государственного экологического контроля и мониторинга объектов по хранению и уничтожению химического оружия (РЦ СГЭЖиМ) по Курганской области,

²Курганский государственный университет,
e-mail: alexeyusd@mail.ru, plotnikom@yandex.ru

В Щучанском районе Курганской области в зоне защитных мероприятий (ЗЗМ) объекта по уничтожению химического оружия (объект «Щучье») в 2009–2014 годах для оценки комбинированного характера действия загрязнителей использовались методы химико-аналитического контроля и биоиндикации. В рамках биологического мониторинга животного мира было проведено исследование зообентоса озёр Наумовское, Панькино и Фролиха с целью определения показателей, необходимых для оценки степени загрязнения и дальнейшего использования в ретроспективном анализе. Все работы проводились в соответствии со стандартными методиками гидробиологических исследований, допущенных в системе Госгидромета России, с использованием метода цифровой микроскопии.

По результатам исследований описано видовое разнообразие зоопланктоценозов, изучены морфологические особенности и динамика популяций беспозвоночных гидробионтов, определены индикаторные свойства организмов. Для оценки состояния экосистем малых озёр рассчитаны индексы Пантле-Букка, которые широко используются при оценке загрязнённости природных и сточных вод. Было установлено, что сообщества исследуемых озёр принадлежат к β -мезосапробным с умеренной долей органического загрязнения, которая может быть вызвана не только антропогенной нагрузкой, но также и значительным накоплением иловых отложений, характерным для озёр Зауралья.

Таким образом, при исследовании зоопланктоценозов озёр ЗЗМ объекта «Щучье» было выяснено, что все изменения для изученных особей беспозвоночных различного таксономического статуса и размерных групп обусловлены естественными сукцессионными процессами. Возможное морфологическое разнообразие форм объясняется модификационной изменчивостью, характерной для их видов при наличии хищников более высокого порядка. Отсутствие тератогенеза, связанного с возможным воздействием химических компонентов на структурные компоненты зоопланктоценозов исследованных водоёмов, позволяет сделать вывод об отсутствии негативного влияния объекта «Щучье» на водные экосистемы зоны защитных мероприятий.

In the Shchuchye district of Kurgan region of the protected area of «Shchuchye» facility for destruction of chemical weapons (PAFDCW) facility for destruction of chemical weapons (object «Shchuchye») in 2009–2014 to assess the nature of the combined effects of pollutants used methods of chemical analysis and control of bio-indication. Within the biological monitoring of fauna study was conducted zoobenthos of lakes Naumovski, Pankino and Frolikha to identify indicators to assess the extent of contamination and further use in a retrospective analysis. All work is carried out in accordance with standard procedures hydrobiological studies made in the system Gosgidrometa Russia, with the use of digital microscopy.

According to the research described species diversity of zooplankton communities, studied the morphological characteristics and population dynamics of aquatic invertebrates, defined indicator properties of organisms. To assess the state of ecosystems of small lakes calculated indices Pantle Bucca, which are widely used in the evaluation of pollution of water and wastewater. It was found that the community of the lakes belong to β -mesosaprobic with moderate proportion of organic pollution that can be caused not only by anthropogenic load, but also a significant accumulation of silt characteristic of lakes Zauralye.

Thus, in the study of zooplankton of lakes PAFDCW «Shchuchye» it was determined that all changes for the studied species of invertebrates and taxonomic status of various size groups are due to natural succession process. Possible morphological diversity of variability explained by the modification characteristic of their species in the presence of higher-order predators. Lack of teratogenesis associated with possible exposure to chemical components on the structural components of the zooplankton communities studied reservoirs, leads to the conclusion about the absence of the negative impact of the project: «Shchuchye» on aquatic ecosystems zone of protective actions.

Ключевые слова: биологический мониторинг, зообентос озёр, сапробность, индексы загрязнения, уничтожение химического оружия.

Keywords: biological monitoring, zoobenthos lakes, saprobity, pollution indices, destruction of chemical weapons.

Введение

В Щучанском районе Курганской области с мая 2009 года работает объект по хранению и уничтожению отравляющих веществ (ОВ) – зарина, зомана и вещества типа Vx – химического оружия (объект «Щучье»). На объекте «Щучье» по состоянию на декабрь 2013 г. уничтожено более 87% запасов химического оружия [1], на конец 2014 г. – около 95%, и с 2015 года на объекте «Щучье» начинается завершающий этап работы – уничтожение ОВ зоман и Vx в изделиях сложной конструкции (ИСК). При штатном режиме работы объекта прямое попадание загрязняющих веществ в природную среду исключается, однако процессы химического разоружения сопряжены с потенциальной опасностью для окружающей среды [2]. При рассеивании в пределах допустимых выбросов даже очень малых количеств уничтожаемых веществ, продуктов их деструкции, компонентов дегазирующих смесей может быть возможным загрязнение как почвы, так и поверхностной воды зоны защитных мероприятий (ЗЗМ).

Известно, что продуктами деструкции фосфорорганических отравляющих веществ зарина, зомана и Vx и компонентами детоксицирующих смесей являются достаточно устойчивые к разложению метилфосфоновая кислота (МФК), моноэтаноламин, их соли, моно- и диалкиловые эфиры МФК (в том числе тиоэфиры) [3], которые в силу своего строения могут быть посредниками свободно-радикальных процессов, влияя на работу антиоксидантной системы живых организмов – растений [4], животных [5, 6], гидробионтов.

При большом количестве химических соединений, образующихся как продукты детоксикации и деструкции фосфорорганических ОВ и дегазирующих составов, при отсутствии для многих из них разработанных нормативов контроля (например, предельно-допустимых концентраций – ПДК), недостаточной базе методического и приборного обеспечения, а также из-за сложности и порой высокой стоимости химических исследований организовать эффективный экологический мониторинг только средствами аналитической химии весьма затруднительно. Химико-аналитический контроль не учитывает и комбинированный характер действия загрязнителей, когда влияние каждого из них может дополнять, усиливать или подавлять друг друга. Следствием этих причин система экологического мониторинга в зоне влияния объектов по

уничтожению химического оружия должна быть основана на сочетании методов химико-аналитического контроля и биологических исследований [7, 8, 9].

В ЗЗМ объекта «Щучье» с 2009 г. проводится регулярный биологический мониторинг различными методами в соответствии с ежегодными программами, согласованными с территориальным органом Росприроднадзора по Курганской области. Биологический мониторинг животного мира в районе расположения объекта «Щучье» осуществлялся с использованием методов оценки хронического (долговременного) воздействия на природные объекты по индикации с использованием индикаторных видов мелких млекопитающих и популяционных показателей зоопланктона (гидробиологический мониторинг).

Целью исследований, результаты которых представлены в этой работе, было определение показателей озёр ЗЗМ объекта «Щучье» для их дальнейшего использования в ретроспективном анализе результатов биомониторинга.

Объекты и методы

Полевые исследования проводились в соответствии со стандартными методиками гидробиологических исследований [10]. Места отбора проб определялись в зависимости от морфологических особенностей водоёма, а количество отбираемых проб зависело от площади озера. Для получения объективных результатов отбор проводился в нескольких повторностях с каждого биотопа, после чего при камеральной обработке проводилось усреднение данных по ним, для учёта пространственной неоднородности размещения организмов. Дальнейшей обработке подвергался нефиксированный биологический материал. При камеральной обработке определялась систематическая принадлежность особей, а на основании обработки результатов – половозрастная структура популяций и пространственное распределение особей в популяциях.

При определении биомассы популяций организмов зоопланктона учитывались размерно-весовые характеристики. Индивидуальную массу особей определяли на аналитических весах с точностью до 0,001 г. Для планктонных ракообразных, относящихся к Copepoda и Cladocera, масса тела рассчитывалась с использованием номограмм [11], отражающих зависимость их массы тела от линейных размеров особей. Среднюю удельную биомассу популяции определяли взвешива-

Таблица 1

Физико-географические характеристики исследованных водоёмов

Водоём	Географические координаты		Площадь, км ²	Длина береговой линии, км	Высота над уровнем моря, м
	с.ш.	в.д.			
Панькино	55°26'43"	62°47'35"	115,5	4,259	160
	55°26'38"	62°47'39"			
Наумовское	55°21'51"	62°42'58"	30,0	2,030	162
	55°21'44"	62°42'47"			
Фролиха	55°14'36"	62°48'05"	77,0	3,281	159
	55°14'31"	62°48'09"			

нием всех особей в пробе с пересчётом данной величины на единицу площади поверхности водоёма (1 м²).

Для определения таксономического статуса организмов использовались определители [12–14]. В результате обработки полученных материалов определялись популяционные характеристики беспозвоночных гидробионтов, статус доминирования их в экосистемах озёр, оценивалось биологическое разнообразие зоопланктоценозов исследованных водоёмов.

Исследованные оз. Наумовское, Панькино и Фролиха расположены в ЗЗМ объекта «Щучье». Озеро Панькино находится на расстоянии 9 км от промзоны объекта «Щучье» в северо-восточном направлении; оз. Наумовское – на расстоянии 4,2 км от промзоны и на расстоянии 10 км к северу от арсенала хранения ХО; оз. Фролиха – на расстоянии 6 км в юго-восточном направлении от него. Физико-географические характеристики водоёмов получены с помощью дистанционного зондирования и обработаны с использованием геоинформационной системы MapInfo 8.0 (табл. 1).

По своему происхождению водоёмы типичны для территории Курганской области и представляют собой результат суффозионных процессов. Это привело к формированию правильных по форме блюдцеобразных озёр с незначительной (2,0–2,5 м) глубиной, малым уклоном дна и различной степенью зарастания погружёнными и полупогружёнными макрофитами.

Результаты и обсуждение

Основные популяционные характеристики планктонных беспозвоночных гидробионтов и беспозвоночных гидробионтов-зоопланктеров в озёрах ЗЗМ объекта «Щучье» в 2009–2014 годах приведены в таблице 2.

В 2009 г. по биологическому разнообразию во всех наблюдаемых водоёмах доминировали виды *Keratella quadrata*, *Acanthocyclops vernalis*. К субдоминантному виду относился *Daphnia*

longispina, численность которого в момент исследования составляла 36000 особей/м². Половая структура представлена преимущественно самками, самцы встречаются редко.

В 2010 г. отбор проб показал изменение видового состава. Доминирующими видами являлись *Daphnia cristata* и *Acanthocyclops vernalis*. Отсутствовал вид *Keratella quadrata*, однако в планктоне присутствовал вид *Daphnia longispina*. По биологическому разнообразию зоопланктонных организмов оз. Панькино представляется наиболее интересным с точки зрения биоиндикации негативных воздействий. Зоопланктоценоз оз. Панькино в 2010 г. был представлен двумя видами ветвистоусых ракообразных (*Cladocera*, *Daphnidae*), которые различаются по степени доминирования. К доминирующим видам ветвистоусых ракообразных в планктоценозе водоёма относятся *Daphnia longispina*, *Daphnia pulex*. К субдоминантному виду относится *Mesocyclops leuckarti*, плотность популяции которого в момент исследования составила 4000 особей/м². Доля молоди в популяциях ветвистоусых ракообразных в июле 2010 г. колеблется от 9 до 13% общей численности популяций. В выводковых камерах самок отмечено в среднем 6–8 яиц, причём часть самок имеют эфиппиумы, содержащие диапаузирующие яйца. Количество самок с яйцами составляет до 76% общего числа особей в популяциях. В осенних сборах 2010 г. в планктоне озёр отмечено значительное количество (до 890 эфиппиумов/м²) эфиппиумов, содержащих диапаузирующие яйца ветвистоусых рачков. Данная зимующая жизненная форма даёт возможность возобновления популяций ветвистоусых рачков после неблагоприятных условий зимнего периода.

Доля молоди в популяциях ветвистоусых ракообразных в 2011 году колеблется от 10 до 23% общей численности популяций. В выводковых камерах самок отмечено в среднем 5–9 яиц, причём часть самок имеют эфиппиумы, содержащие диапаузирующие яйца. Количество самок с яйцами составляет до 48% общего

Таблица 2

Основные популяционные характеристики беспозвоночных гидробионтов в озёрах ЗЗМ объекта «Щучье» Курганской области в 2009–2014 год

Водоём	Систематическая принадлежность организма	2009		2011		2012		2013		2014	
		экз/м ²	г/м ²	экз/м ²	г/м ²	экз/м ²	г/м ²	экз/м ²	г/м ²	экз/м ²	г/м ²
Наумовское	<i>Keratella quadrata</i>	1982	0,059	718	0,021	-	-	-	-	-	-
	<i>Daphnia cristata</i>	622	0,248	826	0,329	86	0,034	122	0,048	316	0,112
	<i>Ceriodaphnia reticulata</i>	-	-	-	-	118	0,082	112	0,078	352	0,106
	<i>Acanthocyclops vernalis</i>	1890	0,378	1664	0,332	-	-	-	-	-	-
	<i>Eudiaptomus gracilloides</i>	-	-	-	-	1058	0,317	926	0,278	769	0,169
Панькино	<i>Culex sp.</i>	4	0,104	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Keratella quadrata</i>	2627	0,079	1228	0,037	-	-	186	0,006	66	0,053
	<i>Kellicottia longispina</i>	-	-	-	-	-	-	98	0,004	98	0,004
	<i>Daphnia longispina</i>	1344	1,075	1124	0,9	-	-	66	0,053	64	0,053
	<i>Daphnia pulex</i>	138	0,193	123	0,172	-	-	-	-	-	-
	<i>Bythotrephes longimanus</i>	-	-	-	-	42	0,075	34	0,061	76	0,089
	<i>Eudiaptomus gracilloides</i>	-	-	-	-	98	0,029	244	0,073	301	0,109
	<i>Mesocyclops leuckarti</i>	826	0,165	4124	0,824	-	-	-	-	-	-
	<i>Cloeon dipterum</i>	-	-	-	-	-	-	34	0,102	52	0,156
Фролиха	<i>Keratella quadrata</i>	926	0,028	882	0,027	438	0,013	246	0,007	246	0,007
	<i>Daphnia longispina</i>	-	-	-	-	184	0,123	98	0,066	49	0,02
	<i>Eudiaptomus gracilis</i>	1128	0,135	1882	0,225	412	0,049	578	0,068	446	0,053
	<i>Eylais sp.</i>	6	0,072	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Daphnia cucullata</i>	528	0,312	618	0,365	228	0,135	46	0,027	-	-

Примечание: - представители данного вида в пробе отсутствовали.

числа особей в популяциях. Зоопланктоценоз в оз. Фролиха достаточно стабилен, а все возможные изменения связаны, по всей видимости, с изменениями солёности воды в водоёме. За исследуемый период минерализация воды в озере повысилась на 1 г/л, что привело к исчезновению из планктоценоза одного вида ветвистоусых рачков (*Bosmina longirostris*, *Keratella quadrata*) и появлению в нём незначительного количества особей *Trichocerca sp.*, *Eylais sp.*, *Daphnia cucullata*, *Cyclops leuckarti*. Представители данного рода, наряду с *Keratella quadrata*, составляют систему субдоминантов, которая может нивелировать незначительные негативные природные воздействия на данный зоопланктоценоз. Одновременно с этими процессами увеличилась численность ещё одного вида-доминанта – веслоногих раков *Cyclops strenuous*, плотность популяции которого в 2011 г. по сравнению с предыдущим годом выросла в 1,75 раза, а в 2009 г. этот вид вообще не был обнаружен. Подобные процессы можно считать типичными для небольших суффозионных озёр исследуемой территории, так как все они подвержены влиянию циклов водности и, как следствие, регулярному изменению минерализации воды. За последние два года начал снижаться уровень подземных вод, а изменения

климата привели к сезонным уменьшениям количества атмосферных осадков. Повышение минерализации воды приводит к структурным перестройкам зоопланктоценозов и изменению их видового разнообразия. В зоопланктоценозах озёр в 2011 г. значительную роль играют ветвистоусые рачки, плотность популяций которых в момент исследований доходила до 826–1134 особей/м². Половая структура популяций сдвинута в сторону преобладания самок, что объясняется неоптимальными условиями существования популяций в момент исследований при массовом развитии зелёных и синезелёных водорослей (цианобактерий). Горизонтальное распределение ветвистоусых ракообразных достаточно равномерно. Это связано с развитием кормовой базы в водоёме и отсутствием ветрового переноса и перемешивания в момент исследований. В 2012 г. для всех трёх модельных водоёмов проводились исследования в прибрежной фации зарастания полуводными и погруженными макрофитами и в открытой части водоёмов, свободной от плавающих макрофитов, на расстоянии 70–120 м от уреза воды. В оз. Фролиха различий в видовом составе зоопланктоценозов прибрежной и открытой части водоёма не наблюдалось. По сравнению с 2011 г. в водоёме в небольшом

количестве и примерно одинаковой плотности популяций появляются *Bosmina longirostris* и *Daphnia longispina*. Стабильно на протяжении всех лет исследований в зоопланктоне отмечались представители веслоногих рачков *Eudiaptomus gracilis* и коловраток *Keratella quadrata*. По сравнению с предыдущими годами наблюдается снижение общей массы планктонных организмов. Возможно, одной из причин, определяющих данную тенденцию в исследованных водоёмах, является снижение уровня воды в связи с аномально жарким летом и минимальный уровень на протяжении современной фазы гидрогеологического цикла для озёр Зауралья. В летний сезон 2013 г. наблюдалась стабилизация структуры зоопланктонных сообществ исследуемых озёр, что, возможно, связано с установлением интервала минерализации среды, характерного для формирования подобных комплексов с меньшим биологическим разнообразием. Несмотря на понижение уровня озёр по вертикали на 0,3–0,5 м и увеличение солёности на 1,0–1,5 г/л, следует отметить общее увеличение численности и биомассы зоопланктона при увеличении степени доминирования отдельных видов. Все изменения в структуре зоопланктоценозов, системе доминирования отдельных видов беспозвоночных гидробионтов и структуры их популяций в них определяются естественными природными причинами и прежде всего – изменением минерализации среды и глубины в определенные фазы минимального уровня гидрологического цикла озёр. В планктоне озёр в 2013 г. появляются коловратки *Keratella quadrata* (оз. Наумовское – 632 особи/м²; Панькино – 228632 особи/м²) и *Kellicottia longispina* (Панькино – 186632 особи/м²). Новым массовым видом для оз. Панькино, имеющим при невысокой плотности популяции (132 особи/м²) среднюю относительную биомассу (0,396 г/м²), в 2013 г. можно считать личиночные стадии подёнок *Cloeon dipterum*.

Среди ракообразных, вновь отмеченных в исследованных озёрах летом 2013 г., встречены *Ceriodaphnia reticulata* (Наумовское – 792 особи/м²) и *Daphnia longispina* (Наумовское – 132 особи/м²).

В 2013–2014 гг. для всех исследуемых озёр была проведена оценка степени загрязнения озёр, для чего использовали индекс Пантле-Букка (табл. 3). Индекс Пантле-Букка является универсальным, применяемым для водоёмов различной типологии и учитывающим как планктон, так и бентос [14]. Индекс вычислялся согласно формуле $I = \Sigma(SJ) / \Sigma J$,

Таблица 3
Индекс сапробности Пантле-Букка
в озёрах ЗЗМ объекта «Щучье» в 2013–2014 гг.

Водоём	Год исследования	
	2013	2014
Наумовское	2,22	2,30
Фролиха	1,90	1,86
Панькино	1,71	1,68

где S – сапробность индикаторного таксона; J – его индикаторный вес. Данный индекс используется в системе Госгидромета России при оценке загрязнённости природных и сточных вод.

Было установлено, что в соответствии со шкалами Кольквитца-Марссона [14] сообщества всех трёх озёр принадлежат к β-мезосапробным с умеренной долей органического загрязнения, которая может быть вызвана не только антропогенной нагрузкой, но также и значительным накоплением иловых отложений, характерным для озёр Зауралья.

Заключение

При исследовании зоопланктона озёр ЗЗМ объекта «Щучье» с использованием метода цифровой микроскопии было выяснено, что все изменения для изученных особей беспозвоночных различного таксономического статуса и размерных групп обусловлены естественными сукцессионными процессами. Возможное морфологическое разнообразие форм объясняется модификационной изменчивостью, характерной для их видов при наличии хищников более высокого порядка. Отсутствие тератогенеза, связанного с возможным воздействием химических компонентов на структурные компоненты зоопланктоценозов исследованных водоёмов, позволяет сделать вывод об отсутствии негативного влияния объекта «Щучье» на водные экосистемы зоны защитных мероприятий.

Литература

1. Холстов В.И. Итоги реализации Федеральной целевой программы «Уничтожение запасов химического оружия в РФ» в преддверии 2014 года // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 4. С. 6–9.
2. Капашин В.П., Поляков А.И., Круглов В.А. Обеспечение экологической безопасности объектов по уничтожению химического оружия // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 4. С. 10–18.
3. Растегаев О.Ю., Чупис В.Н., Марьин В.И. и др. Фосфорорганические отравляющие вещества. Свойства

и методы определения. Саратов: ООО «Фиеста-2000», 2009. 219 с.

4. Огородникова С.Ю., Головки Т.К., Ашихмина Т.Я. Реакции растений на фосфорорганический ксенобиотик – метилфосфовую кислоту. Сыктывкар, 2004. 24 с. (Научные доклады. Коми научный центр УрО РАН. Вып. 464).

5. Плотникова О.М., Евдокимов А.Н., Григорович М.А. О возможности использования ферментативных методов для диагностики влияния метилфосфонатов и моноэтаноламина на теплокровных животных в районах расположения объектов уничтожения химического оружия // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 3. С. 76–80.

6. Плотникова О.М., Матвеев Н.Н., Савинова И.В. и др. Оценка влияния низких доз метилфосфоната на теплокровных животных по биохимическим показателям крови мышей // Естественные и технические науки. 2011. № 1 (51). С. 32–37.

7. Ашихмина Т.Я. Комплексный экологический мониторинг объектов хранения и уничтожения химического оружия. Киров: Вятка, 2002. 544 с.

8. Алексеус Д.Д., Плотникова О.М., Козлов О.В., Максимовских С.Ю. Биомониторинговые исследования

в районе расположения объекта «Щучье» по уничтожению химического оружия // Биосфера. 2014. Т. 6. № 1. С. 17–28.

9. Плотникова О.М., Григорович М.А., Максимовских С.Ю., Кудрин Б.И., Евдокимов А.Н. Биоиндикация как метод биологического мониторинга в районе расположения объекта по уничтожению химического оружия в г. Щучье // Теоретическая и прикладная экология, 2013. № 4. С. 93–98.

10. Руководство по гидробиологическому мониторингу пресноводных экосистем / Под. Ред. проф. Абакумова В.А. СПб.: Гидрометеиздат, 1992. 318 с.

11. Численко Л.Л. Номограммы для определения веса водных организмов по размерам и форме тела. Л.: Наука, 1968. 105 с.

12. Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР (планктон и бентос). Л.: Гидрометеиздат, 1977. 512 с.

13. Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. СПб.: Наука, 2001. Т. 1, 395 с. Т. 2, 629 с.

14. Чертопруд М.В., Чертопруд Е.С. Краткий определитель беспозвоночных пресных вод европейской России. М.: Товарищество КМК, 2010. 179 с.

УДК 581.5:574.2(574.3:574.4)

Экологические аспекты фиторемедиации и рекультивации с использованием сосудистых растений и мохообразных

© 2014. Л. Н. Анищенко¹, д.с.-х.н., профессор, И. А. Балясников², к.с.-х.н., директор,
Т. А. Рудакова, зав. лабораторией,

¹Брянский государственный университет им. акад. И. Г. Петровского,

²Региональный центр государственного экологического контроля
и мониторинга по Брянской области,

e-mail: eco_egf@mail.ru, rcgekim32@gmail.com

Представлены данные по использованию наземных и водных сосудистых растений и компонентов живого напочвенного покрова лесов мохообразных в биоремедиации биотопов от элементов группы тяжёлых металлов (на примере Брянской области). Компоненты биотопов лесных и водных экосистем химически опасного техногенного объекта – предприятия по утилизации химического оружия в Брянской области (ОУХО) – после завершения технологического цикла будут нуждаться в рекультивации. Результат эколого-флористических и экоаналитических работ – перечень видов и фитоценозов для организации фиторемедиации экосистем. Основные требования к таким объектам – широкое распространение, хорошее накопление биомассы и интенсивное вегетативное размножение. Установлено, что виды мохового покрова лесных экосистем накапливают тяжёлые металлы (ТМ) неодинаково: более всего – Fe, Pb, Zn, Mn. Мохообразные рекомендованы для мониторинга района ОУХО по отношению к Sr, Pb, Zn, Cu, Fe, Mn. Среди водных растений-макрофитов наибольшая накопительная способность регистрируется у экологической группы укореняющихся в грунте растений и выносящих листья на поверхность. Среди синантропных сообществ хорошо аккумулируют ТМ моновидовые ценозы. Таким образом, выделены перспективные виды для применения в восстановлении водных ценозов – *Nuphar lutea*, *Ceratophyllum demersum*, *Potamogeton natans*, *Spirodela polyrrhiza*, *Typha latifolia*, *Phragmites australis*, лесных экосистем – *Sphagnum squarrosum*, среды на селитебных территориях – синантропные сообщества *Urtica dioica* и *Cyclachaena xanthiifolia*.

In article data on use of land and water vascular plants and components live land cover of woods moss in bioremediation from elements of group of heavy metals (on an example of Bryansk area) are presented. Components of forest habitats and aquatic ecosystems chemically hazardous man-made object – installations for the disposal of chemical weapons in the Bryansk region (OUXO) – after completion will require remediation. The result of ecological-chemical and environmental analysis work – list of species and plant communities to organize phytoremediation ecosystems. The basic requirements for such facilities is widespread, good biomass accumulation and intensive vegetative reproduction. It is established that the species of the moss cover of forest ecosystems accumulate heavy metals varies: most – Fe, Pb, Zn, Mn. Bryophytes are recommended for monitoring district of ocwd with respect to Sr, Pb, Zn, Cu, Fe, Mn. Among aquatic plants (macrophytes) largest storage capacity shall be registered with the environmental group is taking root in the soil of plants and delivering the sheets to the surface. Among synanthropic communities well accumulate heavy metals monomedia communities. Perspective species for application in restoration water ecosystem – *Nuphar lutea*, *Ceratophyllum demersum*, *Potamogeton natans*, *Spirodela polyrrhiza*, *Typha latifolia*, *Phragmites australis*, wood ecosystem – *Sphagnum squarrosum*, environments on inhabited territories – synanthropic communities *Urtica dioica* and *Cyclachaena xanthiifolia*.

Ключевые слова: фиторемедиация, химически опасные техногенные объекты, сосудистые растения, мохообразные, Брянская область.

Keywords: phytoremediation, chemically hazardous industrial objects, vascular plants, moss, Bryansk region.

Фиторемедиация компонентов наземных и водных экосистем – перспективное направление прикладных экологических исследований, включающее оценку хронического воздействия неблагоприятных факторов, диагностику последствий длительного воздействия загрязнителей (в том числе и сочетанной природы), суммарного эффекта комплекса неблагоприятных факторов (биобезопасности), разработку мероприятий по биологической

реабилитации территорий [1–4]. Однако в настоящее время практически отсутствуют работы, рассматривающие моховой покров, а также широко распространённые фитоценозы синантропной, водной и прибрежно-водной растительности как средство фиторемедиации и последующей рекультивации при различных типах загрязнения, за исключением единичных работ [5, 6]. Компоненты живого напочвенного покрова лесных экосистем,

а также рудеральные, сеgetальные и другие синантропные ценозы, макрофитная растительность обладают свойством быстро восстанавливаться при нарушении (или изъятии). Это обстоятельство позволит ускорить процессы репарации экосистем при стрессовых воздействиях.

На территории Брянской области (юго-западное Нечерноземье России) расположено около 20 опасных техногенных объектов, в том числе и первого класса опасности: объект по хранению (ОХХО) и объект по утилизации химического оружия (ОУХО, 1204) в Почепском районе Брянской области. Все химически опасные техногенные объекты (в том числе и особо опасные – по хранению и утилизации химического оружия) требуют организации комплексного экологического мониторинга для целей обеспечения безопасности, впоследствии – разработки ремедиационных мероприятий в районе эксплуатации объекта. Поэтому поиск надёжных фиторемедиаторов – основа проведения завершающего этапа работ по эксплуатации техногенных систем повышенной опасности.

Цель статьи – рассмотреть накопительные возможности мохообразных, компонентов фитобиоты наземных и водных сообществ по отношению к элементам группы ТМ для оптимизации биоремедиационных мероприятий.

Исследования проводились на селитебных территориях 17 административных районов Брянской области, также в районе ОУХО Почепского района Брянской области (реперные точки 2, 19, 27; 68, 74, 88), в водных объектах Красногорского (Миркинское водохранилище) и Климовского (р. Снов) района.

Сообщества синантропной растительности, а также макрофитной и прибрежно-водной подвергались геоботаническим описаниям по методике школы Ж. Браун-Бланке (1964) [7]. В полевых условиях с площади 0,25 м² скашивалась надземная биомасса растений, подвергалась общепринятой камеральной обработке для пробоподготовки к работе на спектрометре «Спектроскан-Макс» [8]. Ориентировочно-допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве определялись по гигиеническим нормативам [9, 10]. В синантропных ценозах данные анализировались для смешанных образцов фитомассы, для мохообразных живого напочвенного покрова лесных экосистем и водной растительности – для отдельных видов. Номенклатура сосудистых растений дана по С. К. Черепанову [11].

Вычисляли коэффициент накопления (К_{нак}) как отношение концентрации ТМ в образцах фитомассы и концентрации ТМ в почве (грунте) прикорневого пространства. К_{нак} свидетельствует о степени аккумуляции элементов и их соединений исследуемым растением.

Накопительные возможности по отношению к 12 ТМ анализировались для образцов фитомассы в сообществах синантропной растительности класса *Artemisietea vulgaris*, *Bidentetea tripartitae*. Наибольшая аккумуляционная способность по отношению к стронцию зарегистрирована для сообществ ассоциации *Leonuro-Urticetum dioicae*, *Echinocystis lobata* (116,32 и 119,73 мг/кг), к железу – сообществ *Artemisia vulgaris*, *Helianthus tuberosus*, *Cyclachaena xanthiifolia*, *Bidens tripartite* (12506,14 и 12933,95 мг/кг), к хрому – сообществ *Urtica dioica*, *Cyclachaena xanthiifolia* (68,21 и 72,17 мг/кг), к титану – сообществ *Helianthus tuberosus*, *Cyclachaena xanthiifolia* (222,24 и 295,01 мг/кг).

В незначительных количествах надземной растительной биомассой поглощаются кобальт и ванадий. Наиболее перспективны в отношении накопления ТМ, поступающих в почву из различных источников, – широко распространённые синантропные сообщества *Urtica dioica*, а также неофитные фитоценозы *Cyclachaena xanthiifolia*.

Виды мохового покрова лесных экосистем накапливают ТМ неодинаково. Менее всего происходит адсорбция кобальта и ванадия; более всего – Fe, Pb, Zn, Mn. Повышенная концентрация биогенов – Fe, Zn и Mn объясняется тем, что эти ионы входят в состав кофакторов и диагностируются в любых живых компонентах ценозов. Ионы Pb, как ксенобиотики, активно включаются в биологические циклы малого круговорота и наиболее интенсивно накапливаются в живом веществе – бриофитах.

Таким образом, для отдельных видов и смешанных проб мохообразных установлены различные аккумулятивные возможности по отношению к ТМ на основе К_{нак} (рис. 1–4).

Так, *Atrichum undulatum* хорошо аккумулирует Cr, Zn, Mn, *Sphagnum squarrosum* – Pb, Zn, Ni, Cr, Sr, *Polytrichum commune* – Zn, Cr. С удалением от ОУХО для *Atrichum undulatum* возрастает аккумуляция Zn, Cr, падает – для Mn; для *Sphagnum squarrosum* – возрастает аккумуляция Sr, Zn, Cr, Fe, Mn, Cr, Cu, убывает – для Pb; для *Polytrichum commune* возрастает аккумуляция Zn, Fe, Cr, убывает – для Mn.

Наиболее перспективный вид для фиторемедиации при рекультивации лесных

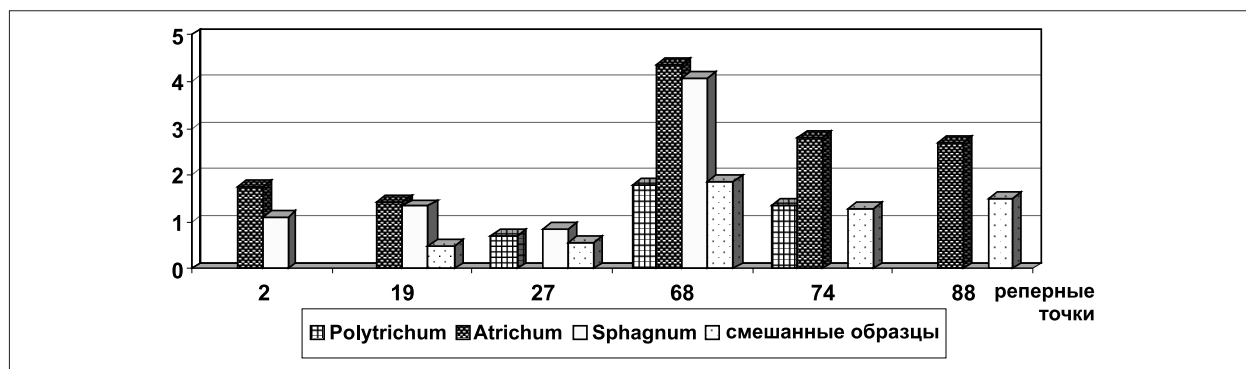


Рис. 1. Коэффициенты накопления для цинка в одних и тех же реперных точках для отдельных видов и смешанных образцов мохообразных.

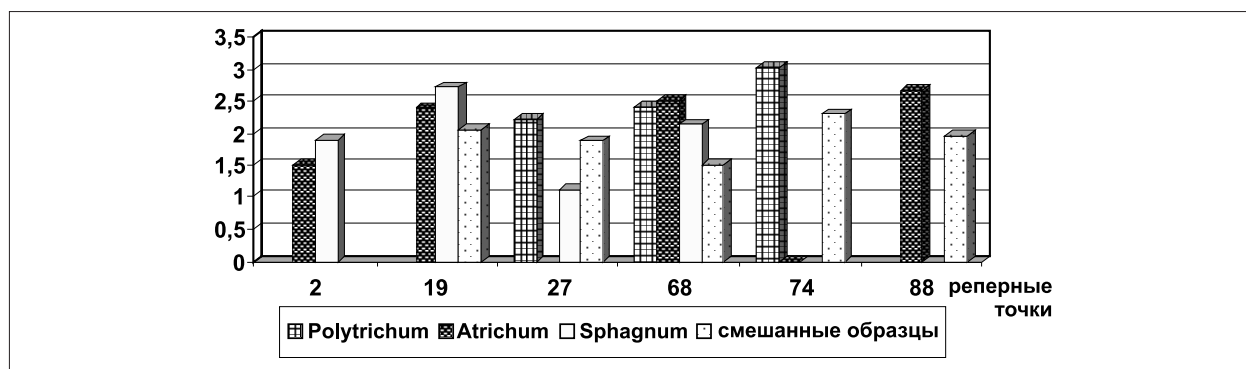


Рис. 2. Коэффициенты накопления для хрома в одних и тех же реперных точках для отдельных видов и смешанных образцов мохообразных.

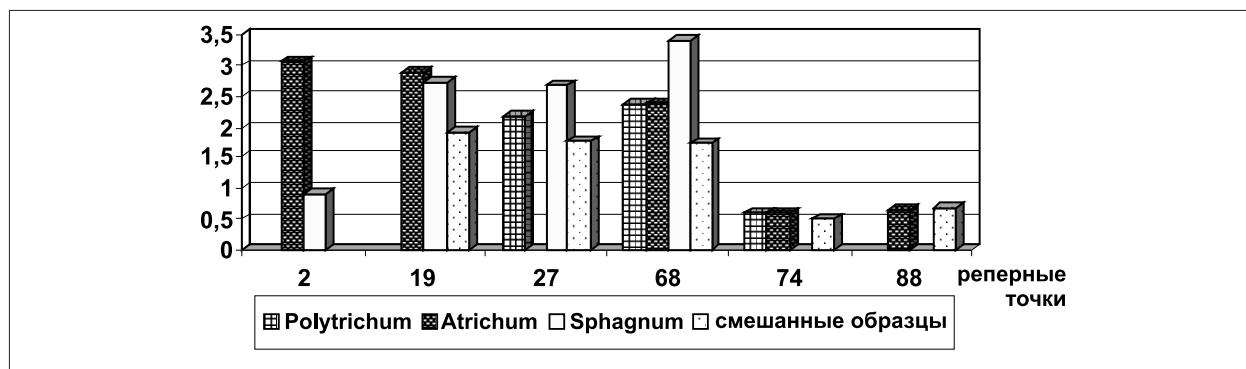


Рис. 3. Коэффициенты накопления для марганца в одних и тех же реперных точках для отдельных видов и смешанных образцов мохообразных.

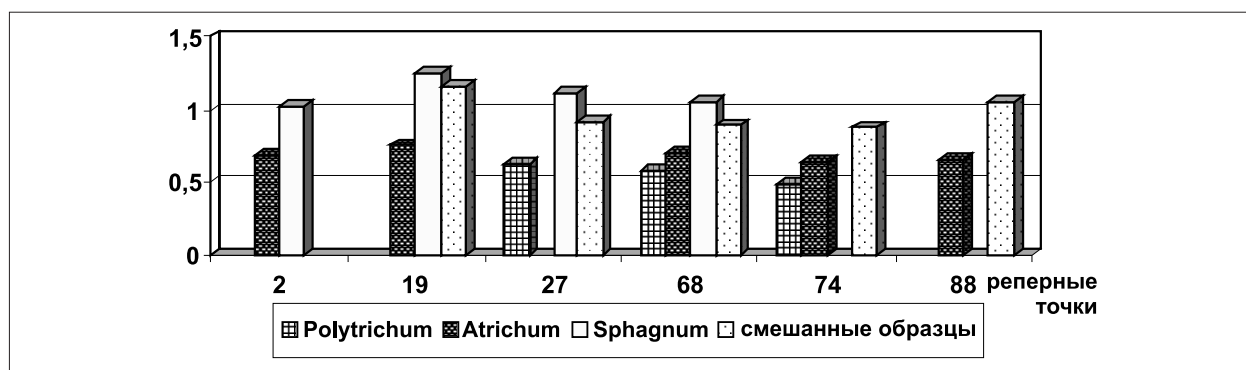


Рис. 4. Коэффициенты накопления для свинца в одних и тех же реперных точках для отдельных видов и смешанных образцов мохообразных.

экосистем – *Sphagnum squarrosum*. Также рекомендуем мохообразные для мониторинга района ОУХО по отношению к Sr, Pb, Zn, Cu, Fe, Mn и использованию для фиторемедиации почв при возможных значительных загрязнениях ТМ. Однако, несмотря на значительное накопление ТМ в моховом покрове, вклад этого компонента в общее загрязнение лесного ценоза токсикантами невелик. Это связано с небольшими по сравнению с другими растительными ярусами запасами фитомассы мохового покрова в исследуемых экосистемах.

При анализе данных о валовом содержании ТМ в растительной биомассе в р. Снов выяснено следующее. Превышает ОДК концентрация свинца в побеговой массе *Phragmites australis*, для остальных растений содержание свинца находится в пределах ОДК. Валовая концентрация меди выше ОДК в пробах биомассы *Acorus calamus* (корневища и надземная биомасса), цинка – в биомассе *Scirpus lacustris*. Не зарегистрировано содержание меди в биомассе плейстофита *Spirodela polyrrhiza*, прибрежно-водного вида *Sparganium emersum*. ОДК для марганца превышена в пробах гелофитов: *Scolochloa festucacea*, *Sparganium emersum*, *Agrostis stolonifera*, *Scirpus lacustris*, плейстофита – *Spirodela polyrrhiza* (валовое содержание марганца максимальное: от 16381,0 до 15283,0 мг/кг). Содержание кобальта в образцах фитомассы водных растений ниже предела обнаружения прибора. Титан зарегистрирован только в корневищах *Acorus calamus*. Наибольшая валовая концентрация стронция показана для плейстофитного вида – *Spirodela polyrrhiza* – от 318,9 до 210,0 мг/кг (различия видовых концентраций статистически достоверны $t_{\text{практ}} > t_{\text{табл}}$). Наименьшее содержание стронция имеет биомасса *Sparganium emersum*. Наибольшее содержание железа зарегистрировано в корневищах *Acorus calamus*, надводной биомассе *Agrostis stolonifera* и *Scirpus lacustris*. Высока валовая концентрация хрома для проб *Agrostis stolonifera* (88,0 мг/кг) и *Scirpus lacustris* (71,0 мг/кг).

Для проб *Ceratophyllum demersum*, отобранных в различных географических точках русла р. Снов, валовые концентрации ТМ мало различаются (статистически недостоверные различия). В целом накопительная способность по отношению к ТМ у речных видов различных экологических групп достоверно различается ($t_{\text{практ}} > t_{\text{табл}}$) по отношению к стронцию, меди, железу, марганцу и хрому.

Для проб фитомассы растений с территории водохранилища значения валового

содержания ТМ распределяются следующим образом. Превышена ОДК по свинцу в биомассе: *Phragmites australis*, *Nuphar lutea* (надводная биомасса, корневище), *Typha latifolia* (корневище), *Spirodela polyrrhiza*. Выше ОДК валовая концентрация цинка обнаружена в пробах *Phragmites australis* (надводная биомасса, корневище), *Nuphar lutea* (корневище), *Typha latifolia* (надводные побеги, корневище), *Potamogeton natans*, *Stratiotes aloides*. Высокое содержание меди зарегистрировано в надводной биомассе и корневищах *Phragmites australis*. Образцы биомассы *Potamogeton perfoliatus* и *Ceratophyllum demersum*, *Spirodela polyrrhiza* и *Hydrocharis morsus-ranae*, *Stratiotes aloides* меди не содержат. Превышает ОДК валовая концентрация марганца для проб *Phragmites australis* (корневище), *Typha latifolia* (надводные побеги, корневище), *Potamogeton perfoliatus*, *Ceratophyllum demersum*, *Spirodela polyrrhiza*, *Hydrocharis morsus-ranae*, *Nuphar lutea* (побеги и корневище), *Potamogeton natans*. Содержание никеля во всех пробах зарегистрировано в пределах ОДК. Для биомассы *Spirodela polyrrhiza*, отобранной в разных точках водохранилища, различия в валовом содержании всех ТМ статистически недостоверны.

Наибольшая валовая концентрация общего стронция определена в биомассе *Stratiotes aloides*, *Potamogeton perfoliatus*, *Spirodela polyrrhiza*, наименьшая – *Typha latifolia* (надводные побеги), *Nuphar lutea* (побеги и корневище). Валовое содержание железа велико в биомассе проб *Potamogeton natans*, *Typha latifolia* (надводные побеги, корневище), *Phragmites australis* (корневище). Также обнаружен ванадий и титан в корневищах *Typha latifolia*. Ни в одном из образцов растений кобальт не обнаружен. В целом при анализе значений валового содержания ТМ в пробах видов с территории водохранилища выяснено, что статистически значимо ($t_{\text{практ}} > t_{\text{табл}}$) различается содержание стронция для плейстофитов *Spirodela polyrrhiza*, *Stratiotes aloides*, погруженного гидрофита *Potamogeton perfoliatus*, и остальных видов (и экологических групп). Значения наибольшей и наименьшей валовой концентрации свинца, цинка, меди, марганца также достоверно различаются для видов. Биомасса многокоренника в озере и реке также содержит различные валовые концентрации свинца (больше в озерных пробах). Остальные ТМ по значениям валового содержания отличаются статистически недостоверно.

Анализ содержания ТМ в биомассе растений эталонных водных экосистем (биосферный резерват Неруссо-Деснянское Полесье) показал следующее [12–14]. Концентрация общего стронция, никеля, хрома, особенно железа и марганца в образцах водных макрофитов Неруссо-Деснянского Полесья статистически достоверно ниже, чем в образцах речных и озёрных видов исследованной территории. Концентрация меди, ванадия у водных макрофитов эталонных экосистем превышает по значениям их содержание в биомассе водных растений исследованной территории (статистически значимые различия).

Сравнительная характеристика валового содержания ТМ в биомассе водных растений водоёмов и водотоков в черте г. Брянска (значительное антропогенное сочетанное загрязнение вод) и проб исследованной территории выявила следующие различия [15]. В побеговой биомассе *Nuphar lutea* в черте города достоверно выше содержание цинка, меди, ванадия, ниже – железа, марганца, хрома; в биомассе *Ceratophyllum demersum* выше концентрация свинца, цинка, никеля, кобальта, ванадия, а железа, марганца, хрома – ниже; в биомассе *Stratiotes aloides* выше содержание свинца, цинка, меди, ванадия, ниже – стронция, железа, марганца; биомасса *Potamogeton natans* содержит значительные концентрации цинка, меди, ванадия по сравнению с пробами растений исследуемых водных объектов, низкие – стронция, железа, марганца, хрома: в биомассе плейстофита *Spirodela polyrrhiza* значительно выше концентрация свинца, цинка, меди, ванадия, ниже – стронция, железа, марганца.

Итак, для фиторемедиации водоёмов и водотоков при антропогенном загрязнении ТМ можно рекомендовать перспективные виды, которые быстро накапливают биомассу и размножаются вегетативно: *Nuphar lutea*, *Ceratophyllum demersum*, *Potamogeton natans*, *Spirodela polyrrhiza*, *Typha latifolia*, *Phragmites australis*.

Таким образом, для центрального района Нечерноземной зоны России – Брянской области – получены данные о видах сосудистых растений и мохообразных, перспективных для фиторемедиации и рекультивации экосистем при загрязнении ТМ. Рекомендуемые для биоремедиационных мероприятий виды широко распространены, встречаются в большом числе наземных и водных экосистем, прекрасно накапливают биомассу и обладают

поглонительными способностями к элементам антропогенного загрязнения.

Литература

1. Анищенко Л.Н., Буховец Т.Н. Настоящие водные макрофиты как аккумуляторы элементов // Экологическая безопасность региона: Статьи II Международной научно-практической конференции. Брянск, 22–24 октября 2009 г. Брянск. 2009. С. 38–42.
2. Анищенко Л.Н., Шматова Л.М. Фиторемедиация – перспективное направление восстановления биотопов нарушенных экосистем // Сотрудничество в области использования природных ресурсов и экологического оздоровления бассейна Днепра: Материалы Международ. научн.-практич. конф. Гомель. 2011. С. 86–89.
3. Фокина А.И., Домрачева Л.И., Широких И.Г., Кондакова Л.В., Огородникова С.Ю. Микробная детоксикация тяжёлых металлов (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2008. № 1. С. 4–10.
4. Маракулина С.Ю., Дёгтева С.В. Изменение экологических условий, растительности и почв при восстановительных сукцессиях на суходольных лугах Кировской области // Теоретическая и прикладная экология. 2008. № 2. С. 64–73.
5. Шматова Л.М. Накопительная способность мохового покрова в условиях естественных и техногенных экосистем // Экологическая безопасность региона: Статьи междунар. науч.-практич. конф. Брянск, 29–30 октября 2009 г. Брянск. 2008. С. 404–409.
6. Рафикова Г.Ф. Сравнительная характеристика микобиот почв разных типов при загрязнении нефтью и биорекультивации: Автореф. дисс...канд. биол. наук. Уфа. 2009. 24 с.
7. Braun-Blanquet J. Pflanzensociologie. J. 3. Aufl. Wien, N.-Y., 1964. 865 S.
8. Методика выполнения измерений массовой доли металлов и оксидов металлов в порошкообразных пробах почв методом рентгенофлуоресцентного анализа. М 049-П/04. СПб.: ООО НПО «Спектрон», 2004. 20 с.
9. ГН 2.1.7.2041-06 Гигиенические нормативы. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве.
10. ГН 2.1.2042-06. Гигиенические нормативы. Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве.
11. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств. СПб. 1995. 992 с.
12. Анищенко Л.Н. Динамика содержания тяжёлых металлов в биомассе макрофитов водоёмов и водотоков Неруссо-Деснянского Полесья // Экологическая безопасность региона: Статьи III Международной научно-практической конференции. Брянск, 21–22 октября 2010 г. Брянск. 2010. С. 48–55.
13. Анищенко Л.Н. Водная растительность и её продукция в экотопах фоновых территорий Брянского Полесья // Российско-Украинско-Белорусское пограничье:

25-летие экологических и социально-педагогических проблем в постчернобыльский период: Материалы междунар. научн.-практ. конф. Новозыбков, 26–27 апреля 2011 г. Новозыбков. 2011. С. 90–93.

14. Итоги биологического контроля качества окружающей среды в системе регионального экомониторинга

(монография) / Ред. Л.Н. Анищенко. Брянск: Изд-во «Курсив», 2011. С. 52–81.

15. Анищенко Л.Н., Буховец Т.Н. Флора и растительность настоящих водных макрофитов водоёмов и водотоков Южного Нечерноземья России. Брянск: Изд-во «Курсив», 2009. 200 с.

ФГБОУ ВПО «Вятский государственный гуманитарный университет»

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН

22–24 апреля 2015 г.

**Всероссийская научно-практическая конференция
«Экология родного края: проблемы и пути их решения»**

Уважаемые коллеги!

Приглашаем Вас принять участие в работе Всероссийской научно-практической конференции «Экология родного края: проблемы и пути их решения», которая состоится в г. Кирове на базе Вятского государственного гуманитарного университета по адресу: г. Киров, ул. Ленина, 198.

Конференция будет включать в себя следующие мероприятия:

1. Пленарные и секционные доклады учёных по направлениям:
 - Мониторинг техногенного загрязнения;
 - Биомониторинг растительного и животного мира;
 - Структурные особенности растений и их сообществ как адаптации к условиям среды;
 - Адаптации животных и их сообществ к условиям среды;
 - Методология оценки состояния природных и антропогенно трансформированных экосистем;
 - Проблемы социальной экологии и экологического образования;
 - Биотехнологии в науке и промышленности.
2. Научный семинар «Механизмы устойчивости и адаптации биологических систем к природным и техногенным факторам».
3. Круглый стол «Структурные особенности растений и их сообществ как адаптации к условиям среды».

К участию приглашаются учёные, в том числе молодые учёные, также специалисты по профилю конференции.

**Для участия в конференции и размещения материалов в сборнике работ
до 15 марта 2015 г. обращаться в организационный комитет:**

ecolab2@gmail.com

г. Киров, ул. Ленина, 113, 4-й этаж,

тел. 8(8332) 37-02-77,

технический секретарь Кардакова Евгения Михайловна

ответственный секретарь Анна Сергеевна Олькова: morgan-abend@mail.ru

Российская академия наук
Научный совет РАН по аналитической химии
Удмуртский научный центр УрО РАН
Институт механики УрО РАН
Государственный научно-исследовательский институт промышленной экологии, г. Саратов
Министерство строительства, архитектуры и жилищной политики Удмуртской Республики
Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Удмуртской Республики
Российское химическое общество им. Д. И. Менделеева
Союз научных и инженерных общественных отделений Удмуртской Республики

**IV Всероссийская конференция
«Химическое разоружение-2015:
итоги и аспекты технологических решений,
экоаналитического контроля и медицинского мониторинга
«СНЕМДЕТ-2015»**

**14 сентября – 18 сентября 2015 г.
г. Ижевск**

Уважаемые коллеги!

Приглашаем Вас принять участие в работе IV Всероссийской конференции «Химическое разоружение-2015: итоги и аспекты технологических решений, экоаналитического контроля и медицинского мониторинга».

Основные цели конференции

На конференции планируется провести обсуждение результатов и проблем химического разоружения в РФ к 2015 г., а также рассмотрение вопросов, связанных с дальнейшим функционированием объектов после выполнения Конвенциональных задач; технологических проблем, связанных с обезвреживанием реакционных масс и отходов уничтожения химического оружия (ХО). В ходе работы конференции предполагается анализ проблем экоаналитического контроля и медицинского мониторинга работ по уничтожению ХО; реабилитации территорий, загрязнённых в результате работ по уничтожению ХО.

Для участия в работе конференции планируется пригласить широкий круг специалистов, занимающихся вопросами химического разоружения в РФ, до этого были успешно проведены конференции «СНЕМДЕТ» в 1996, 2000 и 2009 гг.

Секретариат конференции «СНЕМДЕТ-2015»

Россия, 426067, г.Ижевск, ул. Т. Барамзиной, д. 34, Институт механики УрО РАН.
Тел. (3412) 21-89-55. Факс: (3412) 50-79-59.

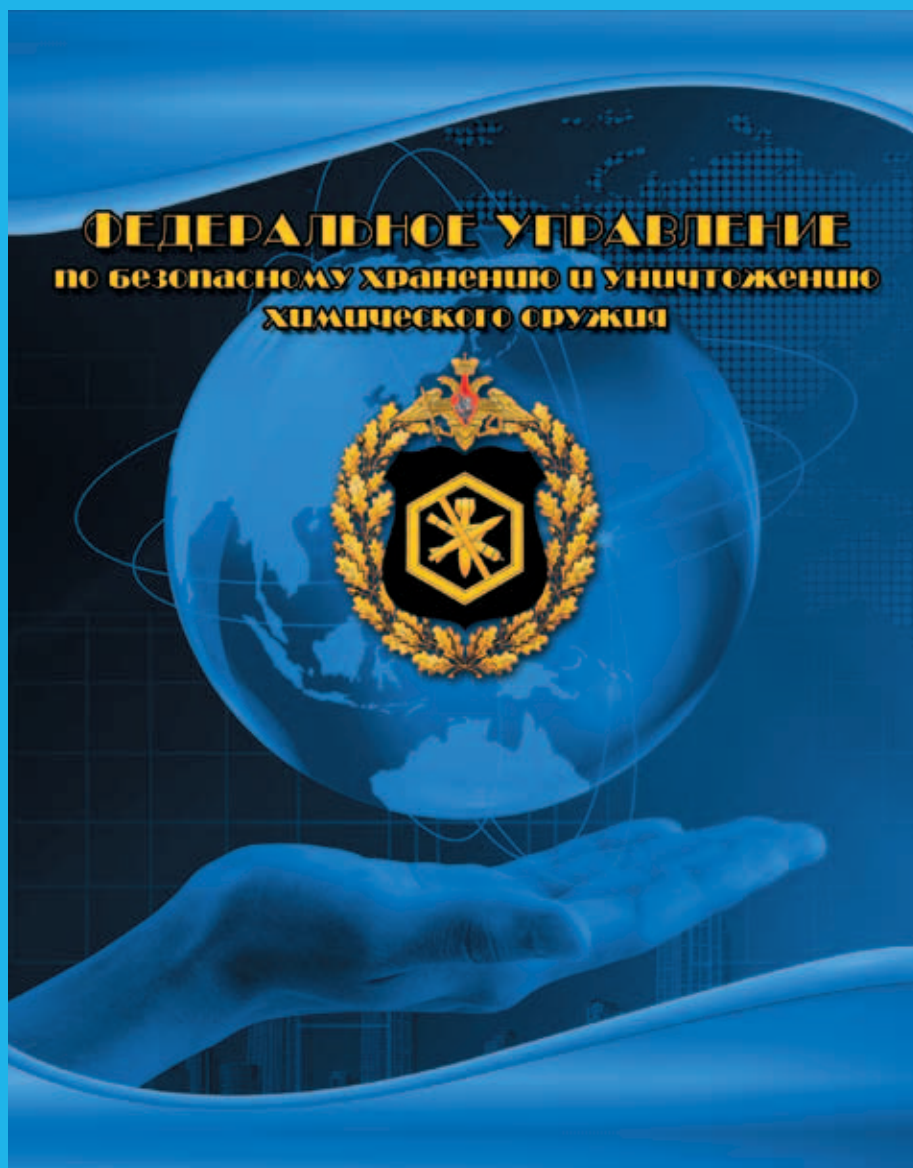
Петров Вадим Генрихович, e-mail: petrov@udman.ru,
Шумилова Марина Анатольевна, e-mail: mashumilova@mail.ru.

Подробную информацию о конференции «СНЕМДЕТ-2015»
можно получить на сайте ИМ УрО РАН: www.udman.ru.



Новые объекты социнфраструктуры, построенные в рамках
ФЦП «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации»

Индекс 82027, 48482



ISSN 1995-4301



9 771995 430004