100 ЛЕТ
УНИВЕРСИТЕТ
ЛОБАЧЕВСКОГО

Д.Б. ГЕЛАШВИЛИ, В.С. БЕЗЕЛЬ,
Е.Б. РОМАНОВА, М.Е. БЕЗРУКОВ,
А.А. СИЛКИН, А.А. НИЖЕГОРОДЦЕВ

ПРИНЦИПЫ И МЕТОДЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

ПРИНЦИПЫ И МЕТОДЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

2016

Министерство образования и науки Российской Федерации
Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского
Институт экологии растений и животных Уральского отделения РАН

**Д.Б. Гелашвили, В.С. Безель, Е.Б. Романова,
М.Е. Безруков, А.А. Силкин, А.А. Нижегородцев**

ПРИНЦИПЫ И МЕТОДЫ
экологической токсикологии

Под общей редакцией проф. Д.Б. Гелашвили

Учебное пособие

Рекомендовано ученым советом Института биологии и биомедицины
ННГУ им. Н.И. Лобачевского для студентов, обучающихся по направлениям
06.03.01; 06.04.01 – «Биология» и 05.03.06; 05.04.06 – «Экология и природопользование»,
аспирантов и специалистов, интересующихся вопросами экотоксикологии

Нижний Новгород
Издательство Нижегородского госуниверситета
2016

УДК 574:615(075.8)
ББК 20.1:52.84я43
П 76

Р е ц е н з е н т ы:
чл.-корр. РАН, доктор биологических наук **Г.С. Розенберг** (ИЭВБ РАН);
доктор биологических наук **И.Е. Постнов** (НГСХА)

Гелашвили Д.Б., Безель В.С., Романова Е.Б., Безруков М.Е., Силкин А.А., Нижегородцев А.А.
П 76 **Принципы и методы экологической токсикологии** / Под ред. проф. Д.Б. Гелашвили. – Нижний Новгород: Изд-во ННГУ, 2016. – 702 с., ил.

ISBN 978-5-91326-336-0

В учебном пособии рассмотрены общие вопросы экотоксикологии, включая популяционные и биоценотические аспекты, экотоксикологическую характеристику приоритетных загрязняющих факторов, методы токсикометрии, в том числе кумулятивное и комбинированное действие. Изложены принципы обоснования ПДК загрязняющих веществ, включая аллергенов, в объектах производственной и окружающей среды, а также рыбохозяйственных водоемах. Рассмотрены принципы обоснования нормативов допустимого воздействия (НДВ) на водные объекты. Приведены методы оценок химического загрязнения воздуха атмосферы, поверхностных вод, в том числе нормативов допустимого сброса (НДС), почв, включая методы определения класса опасности токсичных отходов производства и потребления, наноматериалов, а также методы оценки экологического риска. Глоссарий включает свыше 400 аннотированных терминов.

Предназначена для студентов, обучающихся по направлениям 06.03.01; 06.04.01 – «Биология» и 05.03.06; 05.04.06 – «Экология и природопользование», аспирантов и специалистов, интересующихся вопросами экотоксикологии.

Подготовлено в соответствии с Планом мероприятий по реализации программы повышения конкурентоспособности ННГУ среди ведущих мировых научно-образовательных центров на 2013–2020 гг.

Поддержано Программой фундаментальных исследований УрО РАН № 15-3-4-28.

ISBN 978-5-91326-336-0

УДК 574:615(075.8)
ББК 20.1:52.84я43

© Д.Б. Гелашвили, В.С. Безель, Е.Б. Романова, М.Е. Безруков, А.А. Силкин, А.А. Нижегородцев, 2016
© Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского, 2016

Ministry of Education and Science of the Russian Federation
Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod
National Research University
Institute of Plant and Animal Ecology,
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

**D.B. Gelashvili, V.S. Bezel, E.B. Romanova,
M.E. Bezrukov, A.A. Silkin, A.A. Nizhegorodtsev**

PRINCIPLES AND METHODS of ecological toxicology

Under the general editorship of Prof. D.B. Gelashvili

Recommended by the Academic Council of the UNN Institute of Biology and Biomedicine
for students in the areas of studies 06.03.01; 06.04.01 – «Biology»
and 05.03.06; 05.04.06 – «Ecology and environmental management»,
postgraduates and for professionals interested in ecotoxicology

Nizhni Novgorod
Nizhni Novgorod State University Press
2016

UDC 574:615(075.8)
LBC 20.1:52.84я43
P 76

Reviewers:
G.S. Rozenberg, Corresponding Member of the RAS, Doctor of Sciences (Biology) (IEVB RAS);
I.E. Postnov, Doctor of Sciences (Biology) (NNSAA)

Gelashvili D.B., Bezel V.S., Romanova E.B., Bezrukov M.E., Silkin A.A., Nizhegorodtsev A.A.
П 76 **Principles and Methods of Ecological Toxicology** / Ed. Prof. D.B. Gelashvili. – Nizhni Novgorod: Nizhni Novgorod State University Press, 2016. – 702 p., Ills.

ISBN 978-5-91326-336-0

The book deals with general issues of ecotoxicology, including population and biocenotic aspects, ecotoxicological characterization of priority pollution factors, toxicometry methods, comprising cumulative and combined effects. The principles are presented for substantiation of MPCs of pollutants, including allergens, in production facilities and in the environment, as well as in fishery waters. The principles for substantiation of permissible exposure standards (PES) for water bodies are considered. Methods are presented for assessing chemical pollution of the atmosphere, of surface waters, including the permissible discharge standards (PDS), of soils, including methods for determining the hazard class of production and consumption toxic waste, of nanomaterials, as well as methods for assessing environmental risks. The glossary contains more than 400 annotated terms.

Readership: students in the areas of studies 06.03.01; 06.04.01 – "Biology" and 05.03.06; 05.04.06 – "Ecology and environmental management", postgraduates and professionals interested in ecotoxicology.

Prepared in accordance with the Action plan for implementation of the program to enhance the competitiveness of UNN among the world's leading scientific and educational centers in 2013-2020.

Supported by the Basic Research Program of UB RAS № 15-3-4-28

ISBN 978-5-91326-336-0 UDC 574:615(075.8)
LBC 20.1:52.84я43

© D.B. Gelashvili, V.S. Bezel, E.B. Romanova, M.E. Bezrukov, A.A. Silkin, A.A. Nizhegorodtsev, 2016
© Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень сокращений 25
Предисловие 26
От авторов 27
Введение 29

ЧАСТЬ I
ОБЩИЕ ВОПРОСЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

Введение 37

ГЛАВА 1. АУТЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ

1.1. Экотоксикология в системе биологических наук 38
1.2. Проблема нормы в экотоксикологиии 44
1.3. Экотоксикологические эффекты на разных уровнях организации биосистем 48
1.3.1. Молекулярно-генетический уровень 49
1.3.2. Клеточно-тканевый уровень 51
1.3.3. Онтогенетический уровень 53
1.4. Биотрансформация и биодеградация токсических веществ 57

ГЛАВА 2. ПОПУЛЯЦИОННЫЕ И БИОГЕОЦЕНОТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ

2.1. Зависимость «доза – эффект» в экологической токсикологии 62
2.2. Популяционный уровень экотоксикологических эффектов 67
2.2.1. Роль эколого-генетической и пространственной структуры популяции в условиях экотоксикологической нагрузки 67
2.2.2. Изменчивость популяционных параметров в качестве основы популяционной адаптации к экотоксикологическому воздействию 68
2.2.3. Роль пространственно-функциональной структуры популяции в экотоксикологических эффектах 72
2.2.4. Процессы воспроизводства в природных популяциях растений и животных в условиях экотоксикологической нагрузки 74
2.3. Биогеоценотический уровень экотоксикологических эффектов 81

ГЛАВА 3. ОБЩАЯ ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

3.1. Понятие о загрязнении окружающей среды 85
3.2. Количественные критерии активности экотоксикантов 90

ГЛАВА 4. ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

4.1. Органические загрязняющие вещества 94

4.2. Нефтяное загрязнение 99
4.3. Продукты ракетного топлива 103
4.4. Химическое оружие 108

ГЛАВА 5. ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

5.1. Общая экотоксикологическая характеристика тяжелых металлов 115
5.1.1. Биологическая роль тяжелых металлов 115
5.1.2. Токсичность тяжелых металлов 116
5.1.3. Тяжелые металлы в окружающей среде 119
5.2. Экотоксикологическая характеристика приоритетных тяжелых металлов 130
5.2.1. Ртуть 130
5.2.2. Кадмий 136
5.2.3. Свинец 138
5.2.4. Бериллий 141
5.2.5. Цинк и медь 144
5.2.6. Алюминий 145

ЧАСТЬ II
МЕТОДЫ ТОКСИКОМЕТРИИ

Введение 151

ГЛАВА 6. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЭКОТОКСИКАНТОВ

6.1. Токсикологический эксперимент и его подготовка 152
6.1.1. Условия проведения эксперимента 152
6.1.2. Способы введения токсикантов 157
6.1.3. Выбор и подготовка лабораторных животных к эксперименту 161
6.2. Экспериментальное определение параметров токсикометрии 164
6.2.1. Критерии токсикометрии 164
6.2.2. Планирование эксперимента 168
6.2.3. Методы расчета среднеэффективной дозы токсикантов 170
6.3. Классификация токсичности и опасности химических соединений 186

ГЛАВА 7. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ КУМУЛЯТИВНОГО И КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКОТОКСИКАНТОВ

7.1. Методы оценки кумулятивного действия экотоксикантов 190
7.1.1. Метод Ю.С. Кагана и В.В. Станкевича 194
7.1.2. Метод Б.М. Штабского 195
7.1.3. Метод С.М. Новикова и соавторов 197
7.1.4. Метод С.П. Черкинского и соавторов 198
7.1.5. Метод Лима и соавторов 198
7.2. Методы оценки комбинированного действия экотоксикантов 200
7.2.1. Графический анализ изобол 204
7.2.2. Метод анализа комбинированного действия смеси веществ с постоянным соотношением компонентов 206

7.2.3. Применение методов планирования эксперимента для оценки эффекта комбинированного действия ксенобиотиков 208
7.2.3.1. Однократное комбинированное действие.....210
7.3.3.2.. Многократное комбинированное действие 217
7.3. Приложение. Перевод процентов в пробиты 221

ГЛАВА 8. МЕТОДЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ЭКОТОКСИКАНТОВ

8.1. Общие принципы биологического тестирования..... 224
8.2. Процедура биологического тестирования 234
8.2.1. Отбор, транспортировка и хранение проб анализируемого материала 234
8.2.1.1. Пробы осадков сточных вод на песковых, шламовых и иловых площадках 234
8.2.1.2. Пробы промышленных и твёрдых бытовых отходов 236
8.2.1.3. Пробы почвы 239
8.2.1.4. Отбор, хранение и транспортировка проб поверхностных, природных и сточных вод 239
8.2.2. Приготовление водной вытяжки из осадков сточных вод, отходов и почв 240
8.2.3. Приготовление разбавлений исследуемых вод для биотестирования..... 245
8.2.4. Постановка эксперимента биологического тестирования 246
8.2.4.1. Эксперименты по установлению острого токсического действия на *Daphnia magna* 247
8.2.4.2. Эксперименты по установлению острого токсического действия на *Ceriodaphnia affinis* 248
8.2.4.3. Эксперименты по установлению острого токсического действия на *Chlorella vulgaris*..... 250
8.2.4.4. Методика определения токсичности вод, почв и донных отложений по ферментативной активности бактерий (колориметрическая реакция) 253
8.2.4.5. Определение токсичности воды по хемотаксической реакции инфузорий 256
8.2.4.6. Метод клеточного микроэлектрофореза с использованием приборного комплекса «Цито-эксперт»..... 259
8.3. Обработка, оценка и оформление результатов биотестирования..... 263
8.3.1. Обработка результатов биотестирования в эксперименте на ракообразных (дафнии и цериодафнии)..... 263
8.3.2. Обработка результатов биотестирования в эксперименте на одноклеточных водорослях 268
8.3.3. Обработка результатов биологического тестирования с использованием комплекса «Цито-эксперт» 269

ЧАСТЬ III

ПРИНЦИПЫ РЕГЛАМЕНТИРОВАНИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Введение 275

ГЛАВА 9. ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

9.1. Порог действия вредного вещества 280
9.2. Ориентировочный безопасный уровень воздействия 282
9.3. Предельно допустимые концентрации 284
9.3.1. Обоснование ПДК 285
9.3.2. Виды ПДК и классификация вредных веществ в воздухе рабочей зоны 288
9.3.3. Контроль за содержанием вредных веществ в воздухе рабочей зоны 289
9.3.4. Критерии определения объема и очередности исследований для ускоренного обоснования гигиенических нормативов 290
9.3.5. Критерии выбора веществ, не нуждающихся в установлении нормативов 291
9.4. Тест экспозиции 292
9.5. Зарубежный опыт 292

ГЛАВА 10. ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В ВОЗДУХЕ АТМОСФЕРЫ НАСЕЛЕННЫХ ПУНКТОВ

10.1. Общие замечания 293
10.2. Определение пороговой концентрации вредного вещества по рефлекторному действию 297
10.3. Определение пороговой концентрации вредного вещества по резорбтивному действию 299
10.4. Соотношение дифференцированных по времени осреднения ПДК 301
10.5. Критерии определения объема и очередности исследований, необходимых для ускоренного обоснования гигиенических нормативов 303
10.6. Критерии выбора веществ, не нуждающихся в установлении нормативов 304

ГЛАВА 11. ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДАХ

11.1. Алгоритм обоснования эколого-гигиенических нормативов содержания загрязняющих веществ в воде 306
11.2. Этапы обоснования ПДК 307
11.3. Оценка стабильности и трансформации веществ в водной среде 313

11.4. Определение пороговых концентраций по влиянию веществ на органолептические свойства воды 315
11.5. Экспериментальное установление пороговых концентраций загрязняющих веществ по влиянию на процессы самоочищения водных объектов....317
11.6. Установление параметров токсичности веществ в острых опытах на животных 321
11.7. Порог вредного действия при однократном поступлении вещества в организм 323
11.8. Изучение действия вещества на организм в условиях подострого опыта 324
11.9. Проведение хронического санитарно-токсикологического опыта 328
11.10. Обоснование величины ПДК (ОДУ) веществ в воде 329
11.11. Нормирование препаратов смешанного состава 330
11.12. Критерии выбора веществ, не нуждающихся в установлении нормативов 332
11.13. Критерии определения объема и очередности исследований, необходимых для ускоренного обоснования гигиенических нормативов....332

ГЛАВА 12. ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ВРЕДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ВОДНЫХ ОБЪЕКТАХ РЫБОХОЗЯЙСТВЕННОГО НАЗНАЧЕНИЯ

12.1. Общие положения 334
12.2. Общие требования к разработке ПДК вредного вещества 337
12.3. Краткая характеристика пресноводных биологических тест-объектов ..340
12.4. Оценка влияния вещества на показатели водной среды 348
12.5. Требования к разработке ПДК и ОБУВ для смесей постоянного состава ...350
12.6. Разработка нормативов ПДК веществ с учетом природных особенностей водных объектов 352
12.7. Оценка класса опасности вредного вещества 353

ГЛАВА 13. ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ НОРМАТИВОВ ДОПУСТИМОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ (НДВ) ПО ПРИВНОСУ ХИМИЧЕСКИХ И ВЗВЕШЕННЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПОВЕРХНОСТНЫЕ ВОДНЫЕ ОБЪЕКТЫ

13.1. Общие положения 357
13.2. Схема расчета НДВ на водные объекты....360
13.3. Состав исходной информации для обоснования НДВ....362
13.4. Алгоритмы расчета НДВ 363
13.4.1. Расчет региональных ПДК....365
13.4.2. Расчет НДВ....366
13.5. Методы анализа НДВ....370

ГЛАВА 14. ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В ПОЧВЕ

14.1. Основные положения 378
14.2. Алгоритм обоснования ПДК вредных веществ в почве 380
14.3. Основные этапы эколого-гигиенического регламентирования содержания вредных веществ в почве 383
14.4. Эколого-гигиенические характеристики показателей вредности химических веществ в почве 387
14.5. Альтернативные методы установления гигиенических нормативов вредных веществ в почве 396
14.6. Предельно допустимый уровень внесения (ПДУВ) и безопасные остаточные количества (БОК) вредных веществ в почве как региональные ПДК 397

ГЛАВА 15. ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ПРОМЫШЛЕННЫХ ХИМИЧЕСКИХ АЛЛЕРГЕНОВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ И АТМОСФЕРЫ

15.1. Иммунологическая защита организма от ксенобиотиков 404
15.2. Аллергические реакции. Классификация иммунопатологических состояний 409
15.2.1. Факторы, определяющие аллергоопасность региона 411
15.2.2. Общие подходы к оценке аллергенных свойств ксенобиотиков 412
15.3. Алгоритм обоснования ПДК промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы 414
15.3.1. Общие рекомендации к постановке эксперимента 415
15.3.2. Выбор животных (возраст, пол, количество) 416
15.3.3. Иммунизация животных 417
15.3.4. Расчет доз для испытания 417
15.3.5. Пути воздействия химических веществ на организм 418
15.3.6. Длительность воздействия 418
15.3.7. Эколого-гигиеническое регламентирование содержания аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы 419
15.3.8. Методы выявления сенсибилизации организма на первом этапе исследований 421
15.3.9. Постановка исследований по обоснованию величины гигиенических нормативов 422
15.3.10. Методы выявления аллергенного действия химических веществ 424
15.3.11. Дополнительные методы установления аллергенного действия химических веществ 430
15.3.12. Обоснование величины гигиенических нормативов аллергенов 433

ГЛАВА 16. ПРИНЦИПЫ И ПРОБЛЕМЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО НОРМИРОВАНИЯ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ ЗАГРЯЗНЯЮЩИМИ ВЕЩЕСТВАМИ

16.1. Концепция экологического нормирования 436
16.2. Проблема устойчивости экологических систем 442
16.3. Временные аспекты экологического нормирования.....445
16.4. Пространственная неоднородность экологических систем.....448

ЧАСТЬ IV
МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ И КОНТРОЛЯ СОСТОЯНИЯ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Введение 453

ГЛАВА 17. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА

17.1 Классификация источников загрязнения 456
17.2. Краткая характеристика физических процессов в приземных слоях атмосферы.....458
17.3. Организация наблюдений за уровнем загрязнения атмосферы 461
17.4. Характеристики состояния загрязнения атмосферы населенных мест ...465
17.5. Пример расчета концентраций вредных веществ в атмосферном воздухе.....470
17.6. Расчет загрязнения атмосферы с учетом суммации вредного действия нескольких веществ 477
17.7. Учет фоновых концентраций при расчетах загрязнения атмосферы и установления фона расчетным путем.....478
17.8. Расчет минимальной высоты источника выброса 479
17.9. Установление предельно допустимых выбросов 480
17.10. Санитарно-гигиенические требования к охране атмосферного воздуха населенных мест 482
17.11. Санитарно-защитные зоны 483
17.11.1. Режим территории санитарно-защитной зоны.....486
17.11.2. Санитарная классификация промышленных объектов, размеры ориентировочных санитарно-защитных зон для них 487

ГЛАВА 18. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД

18.1. Общие требования охраны поверхностных вод от загрязнений.....489
18.2. Требования к санитарной охране водных объектов.....490
18.3. Нормативы качества воды водных объектов 491
18.4. Требования к размещению, проектированию, строительству, реконструкции и эксплуатации хозяйственных и других объектов 494
18.5. Требования к организации надзора и контроля за качеством воды водных объектов.....496

18.6. Водные объекты рыбохозяйственного водопользования 498
18.7. Условия отведения сточных вод в поверхностные водные объекты.....498
18.8. Метод комплексной оценки степени загрязненности поверхностных вод по гидрохимическим показателям 501
18.8.1. Система формализованных показателей комплексной оценки 502
18.8.2. Требования к исходной информации.....504
18.8.3. Техника расчета показателей комплексной оценки 506
18.8.4. Комплексная оценка степени загрязненности воды водных объектов с помощью комбинаторного индекса загрязненности воды.....509
18.8.5. Выделение критических показателей загрязненности воды.....512
18.8.6. Рекомендации по использованию метода комплексной оценки 514
18.8.7. Пример расчета комплексных показателей степени загрязненности воды.....515
18.9. Методы расчета нормативов допустимых сбросов (НДС) веществ и микроорганизмов 522
18.9.1. Общие положения 522
18.9.2. Установление лимитов на выбросы и сбросы веществ и микроорганизмов 528
18.9.3. Нормативы качества воды в поверхностных водных объектах.....529
18.9.4. Методическая основа расчета нормативов допустимых сбросов ...531
18.9.5. Расчет величин НДС для отдельных выпусков сточных вод в водные объекты 533
18.9.6. Методика расчета НДС отдельного выпуска в водоем 537
18.9.7. Пример оформления нормативов допустимого и фактического сброса веществ и микроорганизмов.....543

ГЛАВА 19. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КЛАССА ОПАСНОСТИ ТОКСИЧНЫХ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА И ПОТРЕБЛЕНИЯ

19.1. Критерии отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды 547
19.2. Санитарные правила по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления.....554
19.2.1. Расчетный метод определения класса опасности токсичных отходов производства и потребления.....557
19.2.2. Экспериментальный метод определения класса опасности токсичных отходов производства и потребления 562
19.2.3. Сокращенная схема оценки опасности отхода 563
19.2.4. Расширенная схема оценки опасности отхода.....567
19.3. Требования к документации, представляемой для утверждения класса опасности отходов производства и потребления.....568

ГЛАВА 20. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВ

20.1. Количественная оценка степени химического загрязнения почвы населенных мест.....571
20.1.1. Отбор проб 573

20.1.2. Показатели уровня химического загрязнения почвы 574
20.2. Рекомендации по использованию почв 581
20.3. Организация контроля качества почв.....582

ГЛАВА 21. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ОПАСНОСТИ И ТОКСИЧНОСТИ НАНОМАТЕРИАЛОВ

21.1. Общая характеристика наночастиц и наноматериалов.....588
21.2. Продукция, содержащая наноматериалы 593
21.3. Классификация нанотехнологий и продукции наноиндустрии по степени их потенциальной опасности 597
21.4. Методы выявления наноматериалов, представляющих потенциальную опасность для здоровья человека.....599
21.5. Последовательность анализа научно-технической информации 600
21.5.1. Физические характеристики 600
21.5.2. Физико-химические характеристики 601
21.5.3. Молекулярно-биологические характеристики.....602
21.5.4. Цитологические характеристики.....603
21.5.5. Токсикологические характеристики 603
21.5.6. Экологические характеристики.....604
21.6. Алгоритм выявления наноматериалов, представляющих потенциальную опасность для здоровья человека 605
21.6.1. Метод математического моделирования 606
21.6.2. Пример выявления наноматериалов, представляющих потенциальную опасность для здоровья человека 612
21.6.3. Алгоритм определения уровня потенциальной опасности продукции наноматериалов для потребителя 614
21.6.3.1. Ограничительные критерии *К*1–*К*4 614
21.6.3.2. Критерий *В*, характеризующий степень близости продукции наноматериалов к человеку 616
21.6.4. Алгоритм определения уровня потенциальной опасности нанотехнологии для работников предприятия, здоровья населения и окружающей среды 618
21.7. Интерпретация результатов оценки степени потенциальной опасности продукции наноиндустрии и нанотехнологии для здоровья человека и окружающей среды. Составление заключения и рекомендаций 620
21.8. Приложение 622
21.8.1. Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов на культурах клеток высших животных, семенах высших растений и лабораторных животных.....622
21.8.2. Тестирование безопасности наноматериалов *in vitro* и в модельных системах *in vivo* 633

ГЛАВА 22. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА

22.1. Понятие об экологическом риске 637
22.2. Оценка риска 639
22.2.1. Оценка риска угрозы здоровью при воздействии беспороговых токсикантов.....643

22.2.2. Оценка риска угрозы здоровью при воздействии пороговых токсикантов 646
22.3. Управление риском 650
22.4. Информирование о риске 651

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 655

ГЛОССАРИЙ....664

ЛИТЕРАТУРА....690

CONTENTS

List of abbreviations.....25
Foreword.....26
From the authors.....27
Introduction.....29

PART I
GENERAL ISSUES OF ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY

Introduction.....37

CHAPTER 1. AUTECOLOGICAL ASPECTS OF ECOTOXICOLOGY

1.1. Ecotoxicology in the system of biological sciences.....38
1.2. The problem of the norm in ecotoxicology.....44
1.3. Ecotoxicological effects at different levels of organization of biological systems.....48
1.3.1. Molecular and genetic level.....49
1.3.2. Cellular and tissue level.....51
1.3.3. Ontogenetic level.....53
1.4. Biotransformation and biodegradation of toxic substances.....57

CHAPTER 2. POPULATION AND BIOGEOCENOTIC ASPECTS OF ECOTOXICOLOGY

2.1. «Dose – effect» relationship in ecological toxicology.....62
2.2. Population level of ecotoxicological effects.....67
2.2.1. The role of the ecological and genetic and spatial structure of the population under ecotoxicological load.....67
2.2.2. Variability of population parameters as a basis for population adaptation to ecotoxicological effects.....68
2.2.3. The role of spatial and functional structure of the population in ecotoxicological effects.....72
2.2.4. Reproduction processes in natural plant and animal populations under ecotoxicological load.....74
2.3. Biogeocenotic level of ecotoxicological effects.....81

CHAPTER 3. GENERAL ECOTOXICOLOGICAL CHARACTERISTICS OF POLLUTING FACTORS

3.1. The concept of environmental pollution.....85
3.2. Quantitative criteria of ecotoxicant activity.....90

CHAPTER 4. ECOTOXICOLOGY OF ORGANIC POLLUTANTS

4.1. Organic pollutants 94
4.2. Oil pollution 99
4.3. Products of rocket fuel 103
4.4. Chemical weapons 108

CHAPTER 5. ECOTOXICOLOGY OF HEAVY METALS

5.1. General ecotoxicological characterization of heavy metals 115
5.1.1. Biological role of heavy metals 115
5.1.2. Toxicity of heavy metals 116
5.1.3. Heavy metals in the environment 119
5.2. Ecotoxicological characterization of priority heavy metals 130
5.2.1. Mercury 130
5.2.2. Cadmium 136
5.2.3. Lead 138
5.2.4. Beryllium 141
5.2.5. Zinc and copper 144
5.2.6. Aluminium 145

PART II
METHODS OF TOXICOMETRY

Introduction 151

CHAPTER 6. METHODS FOR ASSESSING ACUTE TOXICITY OF ECOTOXICANTS

6.1. Toxicological experiment and its preparation 152
6.1.1. Conditions of the experiment 152
6.1.2. Methods for introducing toxicants 157
6.1.3. Selection and preparation of laboratory animals for the experiment 161
6.2. Experimental determination of toxicometry parameters 164
6.2.1. Toxicometry criteria 164
6.2.2. Design of experiments 168
6.2.3. Methods for calculating the mean effective dose of toxicants 170
6.3. Classification of toxicity and hazard level of chemicals 186

CHAPTER 7. METHODS FOR ASSESSING CUMULATIVE AND COMBINED EFFECTS OF ECOTOXICANTS

7.1. Methods for assessing the cumulative effect of ecotoxicants 190
7.1.1. The method of Yu.S. Kagan and V.V. Stankevich 194
7.1.2. The method of B.M. Shtabsky 195
7.1.3. The method of S.M. Novikov and co-authors 197
7.1.4. The method of S.P. Cherkinsky and co-authors 198
7.1.5. The method of Lim and co-authors 198
7.2. Methods for assessing the combined effect of ecotoxicants 200

7.2.1. Graphical analysis of isoboles 204
7.2.2. The method of analysis of the combined action of a mixture of substances with a constant ratio of components..... 206
7.2.3. Application of experimental design methods to evaluate the effect of combined action of xenobiotics 208
7.2.3.1. Single combined action 210
7.3.3.2. Multiple combined action 217
7.3. Supplement. Conversion of percentage into probit units 221

CHAPTER 8. METHODS OF BIOLOGICAL TESTING OF ECOTOXICANTS

8.1. General principles of biological testing..... 224
8.2. The procedure for biological testing 234
8.2.1. Sampling, transporting and storage of samples of materials to be analyzed..... 234
8.2.1.1. Samples of sewage sludge in grit dewatering bays and sludge drying beds..... 234
8.2.1.2. Samples of industrial and solid waste 236
8.2.1.3. Soil samples 239
8.2.1.4. Sampling, storage and transporting of samples of surface and natural water and sewage 239
8.2.2. Preparation of aqueous extract of sewage sludge, waste and soil..... 240
8.2.3. Preparation of water dilutions for bioassay 245
8.2.4. Experimental design for bioassay 246
8.2.4.1. Experiments to establish an acute toxic effect on *Daphnia magna* 247
8.2.4.2. Experiments to establish an acute toxic effect on *Ceriodaphnia affinis* 248
8.2.4.3. Experiments to establish an acute toxic effect on *Chlorella vulgaris* 250
8.2.4.4. Methods for determining the toxicity of water, soil and sediments based on the enzymatic activity of bacteria (colorimetric reaction) 253
8.2.4.5. Determination of water toxicity by chemotactic response of ciliates 256
8.2.4.6. The method of cell micro-electrophoresis with the use of the "Cyto-expert" instrument system 259
8.3. Processing, evaluation and presentation of bioassay results 263
8.3.1. Processing bioassay results in the experiment on crustaceans (Daphnia and Ceratodaphnia)..... 263
8.3.2. Processing bioassay results in the experiment with single-celled algal..... 268
8.3.3. Processing bioassay results with the use of the «Cyto-expert» instrument system 269

PART III
PRINCIPLES OF REGULATION OF ENVIRONMENTAL POLLUTION

Introduction 275

CHAPTER 9. PRINCIPLES FOR SUBSTANTIATION OF MAXIMUM PERMISSIBLE CONCENTRATIONS OF POLLUTANTS IN WORKPLACE AIR

9.1. Threshold of harmful substance action.....280
9.2. Tentative safe exposure level 282
9.3. Maximum permissible concentrations 284
9.3.1. Substantiation of MPC.....285
9.3.2. Types of MPC and classification of harmful substances in workplace air.....288
9.3.3. Monitoring the content of harmful substances in workplace air.....289
9.3.4. Criteria for determining the scope and priority of research for an accelerated substantiation of hygienic standards.....290
9.3.5. Criteria for selection of substances that do not require the establishment of standards.....291
9.4. Exposure test 292
9.5. Foreign experience 292

CHAPTER 10. PRINCIPLES FOR SUBSTANTIATION OF MAXIMUM PERMISSIBLE CONCENTRATIONS OF POLLUTANTS IN THE ATMOSPHERIC AIR OF POPULATED AREAS

10.1. General remarks 293
10.2. Determination of threshold concentration of harmful substances based on reflex action.....297
10.3. Determination of threshold concentration of harmful substances based on resorptive action 299
10.4. Relationship between MPCs differentiated with respect to averaging time ..301
10.5. Criteria for determining the scope and priority of research required for accelerated substantiation of hygienic standards.....303
10.6. Criteria for selection of substances that do not require the establishment of standards..... 304

CHAPTER 11. PRINCIPLES FOR SUBSTANTIATION OF MAXIMUM PERMISSIBLE CONCENTRATIONS OF POLLUTANTS IN SURFACE WATERS

11.1. The algorithm for substantiation of ecological and hygienic standards for pollutant content in water.....306
11.2. Stages of MPC substantiation 307
11.3. Evaluation of stability and transformation of substances in an aqueous medium.....313

11.4. Determination of threshold concentrations with regard to the effect of substances on organoleptic properties of water 315
11.5. Experimental determination of threshold concentrations of pollutants with regard to the effect on the processes of self-purification of water bodies 317
11.6. Establishing the toxicity parameters of substances in acute tests on animals 321
11.7. One-time threshold of harmful effect 323
11.8. The study of effects of a substance on the body in a subacute test....324
11.9. Chronic sanitary and toxicological test 328
11.10. Substantiation of the MPC (TPL) value for substances in water....329
11.11. Regulation of mixed-composition chemicals 330
11.12. Criteria for selection of substances that do not require standards 332
11.13. Criteria for determining the scope and priority of research required for accelerated substantiation of hygienic standards....332

CHAPTER 12. PRINCIPLES FOR SUBSTANTIATION OF MAXIMUM PERMISSIBLE CONCENTRATIONS OF HARMFUL SUBSTANCES IN FISHERY WATER BODIES

12.1. General provisions....334
12.2. General requirements for the development of MPCs for harmful substances 337
12.3. Brief description of freshwater biological test objects 340
12.4. Assessing the impact of a substance on the aquatic environment indicators....348
12.5. Requirements for the development of MPCs and TSELs for mixtures of constant composition....350
12.6. Development of standards for MPCs with the account of natural features of water bodies 352
12.7. Assessment of the hazard class of a harmful substance 353

CHAPTER 13. PRINCIPLES FOR SUBSTANTIATION OF PERMISSIBLE EXPOSURE STANDARDS (PES) FOR THE INPUT OF CHEMICAL AND SUSPENDED MINERAL SUBSTANCES TO SURFACE WATER BODIES

13.1. General provisions....357
13.2. PES calculation scheme for water bodies....360
13.3. Source information for substantiating PESs....362
13.4. Algorithms for calculating PESs 363
13.4.1. Calculation of regional MPCs 365
13.4.2. Calculation of PESs 366
13.5. Methods of PES analysis....370

CHAPTER 14. PRINCIPLES FOR SUBSTANTIATION OF MAXIMUM PERMISSIBLE CONCENTRATIONS OF POLLUTANTS IN THE SOIL

14.1. General provisions.....378
14.2. The algorithm for substantiation of MPC of harmful substances in the soil ..380
14.3. Main stages of ecological and hygienic regulation of harmful substances in the soil.....383
14.4. Ecological and hygienic characteristics of hazard indicators of chemicals in the soil.....387
14.5. Alternative methods for establishing hygienic standards for harmful substances in the soil 396
14.6. Maximum permissible application level (MPAL) and safe residual levels (SRLs) of harmful substances in the soil as regional MPCs 397

CHAPTER 15. PRINCIPLES FOR SUBSTANTIATION OF MAXIMUM PERMISSIBLE CONCENTRATIONS OF INDUSTRIAL CHEMICAL ALLERGENS IN THE WORKPLACE AREA AND IN THE ATMOSPHERE

15.1. Immunological defense of an organism from xenobiotics 404
15.2. Allergic reactions. Classification of immunopathological states.....409
15.2.1. Factors determining the allergic hazard level of a region.....411
15.2.2. General approaches to the evaluation of allergenic properties of xenobiotics 412
15.3. The algorithm for substantiation of MPC for industrial chemical allergens in the workplace area and the atmosphere 414
15.3.1. General recommendations for experimental design.....415
15.3.2. Selection of animals (age, gender, number).....416
15.3.3. Immunization of animals 417
15.3.4. Calculation of doses for testing 417
15.3.5. Ways of an organism's exposure to chemicals.....418
15.3.6. Duration of exposure 418
15.3.7. Ecological and hygienic regulation of the content of allergens in the air of the workplace area and in the atmosphere.....419
15.3.8. Methods for detection of an organism's sensitization at the first stage of research 421
15.3.9. Design of research to substantiate the values of hygienic standards.....422
15.3.10. Methods for detection of allergenic action of chemicals 424
15.3.11. Additional methods for establishing the allergenic action of chemicals.....430
15.3.12. Substantiation of the value of hygienic standards for allergens.....433

CHAPTER 16. PRINCIPLES AND PROBLEMS OF ECOLOGICAL REGULATION OF ANTHROPOGENIC LOADING BY POLLUTANTS

16.1. The concept of environmental regulation 436
16.2. The problem of stability of ecological systems 442
16.3. Temporal aspects of environmental regulation 445
16.4. Spatial heterogeneity of ecological systems 448

PART IV
METHODS FOR ASSESSING CHEMICAL POLLUTION AND MONITORING THE STATE OF THE ENVIRONMENT

Introduction 453

CHAPTER 17. METHODS FOR ASSESSING CHEMICAL POLLUTION OF ATMOSPHERIC AIR

17.1. Classification of pollution sources 456
17.2. Brief description of the physical processes in the surface layers of the atmosphere 458
17.3. Organisation of the monitoring of air pollution level 461
17.4. Characteristics of atmospheric pollution of residential areas 465
17.5. An example of calculating the concentration of harmful substances in the air 470
17.6. Calculating air pollution based on the summation of the harmful effects of several substances 477
17.7. Accounting for background concentrations in the calculation of air pollution and establishing the background by calculation 478
17.8. Calculating the minimum height of an emission source 479
17.9. Establishing maximum permissible emissions 480
17.10. Sanitary and hygienic requirements for the protection of atmospheric air of residential areas 482
17.11. Sanitary protection zones 483
17.11.1 The regime of the territory of a sanitary protection zone 486
17.11.2 Sanitary classification of industrial facilities and the dimensions of buffer zones for them 487

CHAPTER 18. METHODS FOR ASSESSING CHEMICAL POLLUTION OF SURFACE WATERS

18.1. General requirements for the protection of surface waters from pollution 489
18.2. Requirements for sanitary protection of water bodies 490
18.3. Quality standards for water in water bodies 491
18.4. Requirements for the location, design, construction, reconstruction and operation of economic and other facilities 494

18.5. Requirements for the organization of supervision and control of water quality in water bodies 496
18.6. Fishery water bodies.....498
18.7. Conditions for discharge of effluent into surface water bodies 498
18.8. The method of integrated assessment of surface water pollution in terms of hydrochemical indicators 501
18.8.1. The system of formalized indicators for integrated assessment.....502
18.8.2. Requirements for source information 504
18.8.3. Techniques for calculating the integrated assessment indicators.....506
18.8.4. Integrated assessment of the degree of water pollution of water bodies by using the Specific Combined Water Pollution Index (SCWPI) 509
18.8.5. Identification of critical indicators of water pollution 512
18.8.6. Recommendations for the use of the integrated assessment method .. 514
18.8.7. An example of calculation of integrated indicators of the degree of water pollution.....515
18.9. Methods for calculating the permissible discharge standards (PDS) for substances and microorganisms 522
18.9.1. General provisions.....522
18.9.2. Setting limits on emissions and discharges of substances and micro-organisms.....528
18.9.3. Quality standards of water in surface water bodies 529
18.9.4. Methodological basis for the calculation of standards for allowable discharges 531
18.9.5. Calculation of the PDS for individual discharges of sewage effluent into water bodies.....533
18.9.6. Methods for calculating the PDS for an individual discharge into a water body 537
18.9.7. An example of standards for permissible and actual discharge of substances and microorganisms.....543

CHAPTER 19. METHODS FOR DETERMINING THE CLASS OF HAZARD OF TOXIC PRODUCTION AND CONSUMPTION WASTES

19.1. Criteria for classification of hazardous waste in terms of environmental hazard.....547
19.2. Sanitary rules for determining the hazard class of production and consumption toxic waste 554
19.2.1. Calculation method for determining the hazard class of production and consumption toxic waste.....557
19.2.2. Experimental method for determining the hazard class of production and consumption toxic waste.....562
19.2.3. Reduced evaluation scheme for waste hazard rating 563
19.2.4. Extended evaluation scheme for waste hazard rating 567
19.3. Requirements for the documentation to be submitted for the approval of the hazard class of production and consumption waste.....568

CHAPTER 20. METHODS FOR ASSESSING CHEMICAL CONTAMINATION OF SOILS

20.1. Quantitative assessment of chemical contamination of soil in populated areas 571
20.1.1. Collection of samples 573
20.1.2. Indicators of chemical contamination of soil.....574
20.2. Recommendations for the use of soils.....581
20.3. Organization of soil quality monitoring 582

CHAPTER 21. METHODS FOR ASSESSING HAZARDS AND TOXICITY OF NANOMATERIALS

21.1. General characteristics of nanoparticles and nanomaterials.....588
21.2. Products containing nanomaterials.....593
21.3. Classification of nanotechnologies and nanotechnology products in terms of their potential hazard.....597
21.4. Methods for identification of nanomaterials posing a potential hazard to human health 599
21.5. Sequence of analysis of scientific and technical information.....600
21.5.1. Physical characteristics.....600
21.5.2. Physico-chemical characteristics 601
21.5.3. Molecular biological characteristics 602
21.5.4. Cytological characteristics 603
21.5.5. Toxicological characteristics 603
21.5.6. Ecological characteristics 604
21.6. The algorithm for identification of nanomaterials posing a potential hazard to human health 605
21.6.1. Mathematical modelling method 606
21.6.2. An example of identifying nanomaterials that pose a potential hazard to human health 612
21.6.3. The algorithm for determining the level of the potential hazard to the consumer of products containing nanomaterials.....614
21.6.3.1. Restrictive criteria K1 – K4 614
21.6.3.2. The criterion B for characterizing the degree of proximity of nanomaterial products to humans 616
21.6.4. The algorithm for determining the level of potential hazards of nanotechnologies for enterprise employees, public health and the environment 618
21.7. Interpretation of the results of assessing potential hazards of nanoindustry products and nanotechnologies to human health and the environment. Drawing conclusions and recommendations.....620
21.8. Supplement.....622
21.8.1. Medical and biological safety assessment of nanomaterials in cell cultures of higher animals, seeds of higher plants and laboratory animals 622
21.8.2. Testing the safety of nanomaterials in vitro and in vivo model systems 633

CHAPTER 22. ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT METHODS

22.1. The concept of environmental risk.....637

22.2. Risk assessment.....639
22.2.1. Assessment of health risks arising from non-threshold toxicants.....643
22.2.2. Assessment of health risks arising from threshold toxicants.....646
22.3. Risk management.....650
22.4. Informing about the risk.....651

CONCLUSION.....655

GLOSSARY.....664

REFERENCES.....690

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

АГ – антиген
АТ – антитело
ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа
ДОК – допустимое остаточное количество
ДОД – допустимая остаточная доза
ЕКП – естественные ксенобиотические профили
КВИО – коэффициент возможности ингаляционного отравления
НДВ – норматив допустимого воздействия
НДС – норматив допустимого сброса
ОБУВ – ориентировочный безопасный уровень воздействия
ОДК – ориентировочно допустимые концентрации
ОДУ – ориентировочно допустимый уровень
ПДВВ – предельно допустимое вредное воздействие
ПДК – предельно допустимая концентрация
ПДС – предельно допустимый сброс
ПДУВ – предельно допустимый уровень внесения
ЦПКВ – целевые показатели качества воды
ПХБ – полихлорированные бифенилы
ЭДУ – экологически допустимый уровень
ЭХВ – экзогенное химическое вещество
CL_{50} – среднесмертельная концентрация
Ir-гены – аутосомно-доминантные гены
Lim_{ac} – порог острого действия
Lim_{ch} – порог хронического действия
Lim_{sp} – порог специфического действия
Z_{ac} – зона острого действия
$Z_{b.ef}$ – зона биологического действия
Z_{ch} – зона хронического действия

ПРЕДИСЛОВИЕ

Экологическая токсикология – это междисциплинарное направление, активно развиваемое в последнее время. Экотоксикология изучает биосистемы различного уровня сложности: от организма до экосистемы, подвергающиеся техногенному загрязнению химическими соединениями, число которых неуклонно возрастает. Этот процесс является неизбежным следствием научно-технического прогресса, поэтому знание структуры и механизмов действия ксенобиотиков становится жизненно необходимым для общества. Получение новых знаний и их воспроизводство путем образования – атрибут цивилизованного общества. Неоценимую помощь на этом пути оказывают книги.

Предлагаемое вниманию читателя учебное пособие, предназначенное для экологов широкого профиля, по праву можно отнести к категории «оригинальных и удачных». Пособие является результатом совместного труда ученых и преподавателей Нижегородского госуниверситета им. Н.И. Лобачевского и Института экологии растений и животных УрО РАН, на протяжении многих лет работающих в области экотоксикологии и преподающих ее в университетах. Это эффективная комбинация, позволяющая, что называется, «из первых рук» донести до читателя современные проблемы и достижения экотоксикологии. В пособии рассмотрены общие вопросы экотоксикологии, включая популяционные и биоценотические аспекты, экотоксикологическую характеристику приоритетных загрязняющих факторов, методы токсикометрии, проблемы нормирования вредных веществ и др.

Кроме традиционных разделов, присутствующих и в других аналогичных изданиях, это пособие содержит несомненные новации, в том числе изложение методов оценки опасности и токсичности наноматериалов, методы оценки экологического риска и ряд других. Несмотря на солидный объем, структура пособия позволяет воспользоваться им как своеобразной мини-энциклопедией, поскольку каждая из 22 глав самодостаточна и информативна. Авторы постарались учесть все многообразие действующей нормативно-технической документации и методической литературы, что позволяет использовать пособие и как справочное руководство. Достоинством пособия является и обширный глоссарий, включающий около 400 аннотированных терминов.

Учебное пособие, несомненно, найдет своих читателей – студентов, аспирантов, преподавателей, специалистов, интересующихся экотоксикологией.

Академик В.Н. Большаков

ОТ АВТОРОВ

Это пособие адресовано в основном студентам университетов, изучающих экологическую токсикологию или близкие учебные дисциплины, например «Нормирование и снижение загрязнения окружающей среды», но может оказаться полезной уже практикующим специалистам. Многолетний опыт преподавания в вузе иногда играет с авторами злую шутку, которую крупнейший эколог XX в. Ю. Одум (1985. Т. 1. С. 8) назвал «синдромом динозавра», имея в виду, что «…при переиздании учебники… становятся все более толстыми, все более энциклопедичными и все менее полезными для студентов, особенно начинающих». Этот синдром имеет некоторое отношение и к авторам этой книги, поскольку она основывается на материалах, опубликованных в предыдущих наших работах. Содержание пособия – итог непростой внутренней борьбы между желанием включить в текст как можно больше новых и актуальных данных и чувством самосохранения, предостерегающим от печальной судьбы, предсказанной для таких книг все тем же Ю. Одумом: «Затем, как доисторические монстры, они (т.е. такие учебники. – *Авт.*) вымирают» (ibidem, С. 8). Насколько нам удалось это сделать, судить рецензентам и читателям. Материалы, изложенные в пособии, прошли многолетнюю апробацию в процессе чтения лекций и проведения семинарских занятий на биологическом и химическом факультетах Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского, Уральского государственного педагогического университета и Уральского федерального государственного университета.

Любая книга неизбежно несет отпечаток профессиональных интересов и компетенций авторов. Кроме того, междисциплинарный характер экологической токсикологии делает поистине безграничным объем знаний и фактологию предмета, подробное и последовательное изложение которых требует многотомного руководства. Авторы пытались дистанцироваться от такого формата, что повлекло некоторую эклектичность материала. Мы надеемся, что неизбежно существующие в книге пробелы взыскательный читатель может восполнить, обратившись к первоисточникам, которые, по возможности полно, мы попытались представить в списке рекомендованной литературы и перечне нормативно-технической документации.

Материал изложен в пособии в следующей последовательности.

В первой части – «Общие вопросы экологической токсикологии» (главы 1–5), написанной *В.С. Безелем*, рассматривается роль экотоксикологии в системе биологических наук, ее связь с общей и промышленной токсикологией, обсуждаются экотоксикологические эффекты на различных уровнях организации живой материи: организменном, популяционном, биоценотическом. Дается общая экотоксикологическая характеристика загрязняющих факторов, включая органические соединения и тяжелые металлы, а также кратко рассматриваются специфические, но актуальные экотоксикологические пробле-

мы, связанные с разливами нефти, компонентами ракетного топлива и проблемой уничтожения химического оружия.

Вторая часть пособия «Методы токсикометрии» (главы 6–8), подготовленная *М.Е. Безруковым, Д.Б. Гелашвили и А.А. Силкиным*, посвящена количественным методам оценки токсичности, кумулятивности и комбинированного действия экотоксикантов, а также методам их биологического тестирования.

В третьей части – «Принципы регламентирования загрязнения объектов производственной и окружающей среды» (главы 9–16), написанной *Д.Б. Гелашвили и Е.Б. Романовой*, последовательно рассматриваются санитарно-гигиенические подходы и эколого-гигиенические принципы обоснования предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в воздушной среде (воздух рабочей зоны и воздух атмосферы населенных пунктов); водной среде (включая нормативы допустимого воздействия, НДВ); почве, а также обсуждаются проблемы экологического нормирования антропогенной нагрузки.

Четвертая часть – «Методы оценок химического загрязнения и контроля состояния объектов окружающей среды» (главы 17–22), подготовленная *Д.Б. Гелашвили и А.А. Нижегородцевым,* представляет собой адаптированные для учебного процесса материалы действующих нормативно-технических документов (НТД)[1] (методических указаний, рекомендаций, руководящих документов и т.д.), знакомство с которыми необходимо для организации и проведения мониторинга загрязнения атмосферного воздуха, поверхностных вод, почв, установления класса опасности отходов производства и потребления, а также оценки потенциальной опасности нанотехнологий и продукции наноиндустрии.

Глоссарий призван облегчить читателю толкование узкоспециализированных терминов, которые являются неизбежными атрибутами экотоксикологии как междисциплинарной научной отрасли знаний.

Авторы будут признательны за все замечания и пожелания, направленные на улучшение содержания и оформления пособия.

Авторы

[1] Авторы использовали действующую на момент написания пособия нормативно-техническую документацию.

ВВЕДЕНИЕ

Все возрастающее в последние десятилетия химическое загрязнение биосферы привело к формированию нового научного направления – экологической токсикологии. Экологическая токсикология сегодня – это комплексное научное направление, которое базируется на основных принципах и подходах таких изучающих биосферу наук, как экология, биогеохимия, соответствующие разделы медицины.

Вызванные химическим загрязнением биосферы токсические проявления на суборганизменном и организменном уровнях организации живого, оценка последствий и методы их исследования аналогичны соответствующим подходам токсикологии и гигиены.

С другой стороны, избирательное накопление токсикантов отдельными видами организмов и связанное с этим изменение биоценотической структуры подверженных загрязнению биоценозов влияют на формирование локальных биогеохимических циклов. Это сближает экологическую токсикологию с науками о биосфере (биогеохимией и геоэкологией). Поэтому, в первом приближении, можно определить экологическую токсикологию как науку о реакции на химическое загрязнение среды биологических систем надорганизменного уровня (популяций, сообществ, биогеоценозов).

Во второй половине XX века в России появляются публикации, авторы которых предпринимали попытки определить границы нового научного направления экологической науки, изучающего реакции природных видов организмов на химическое загрязнение среды. Это прежде всего основополагающие работы Н.В. Лазарева по проблемам геогигиены (1966), Д.А. Криволуцкого (1983) по радиоэкологическим проблемам, А.Д. Покаржевского (1985) и Н.В. Лебедевой (1999) по экотоксикологии животных. Заметим, что в эти же годы активно разрабатываются такие важные для экологической токсикологии направления, как химический и радиационный мутагенез, эндемические заболевания человека и сельскохозяйственных животных, радиобиология.

Чаще всего в научных исследованиях подчеркивают прикладные аспекты экологической токсикологии. В определенной мере это оправданно, поскольку состояние природных экосистем, подверженных химическому загрязнению, является важным аргументом при принятии конкретных природоохранных решений.

Вместе с тем анализ устойчивости таких систем, проводимый в рамках экотоксикологических исследований, имеет общебиологическое и экологическое значение. Экология – наука о биологических системах надорганизменного уровня – имеет дело с механизмами, обеспечивающими их стабильное существование при смене «естественных» условий. Из общей теории систем следует, что подобные механизмы проявляются в максимальной мере, если внешние воздействия стремятся вывести систему из состояния равновесия.

Экологическая токсикология имеет дело именно с таким воздействием: токсическим фактором. Важно, что в отличие от других воздействий при химическом загрязнении среды речь идет о строго дозированном воздействии токсикантов, содержащихся в организмах, в почвах и иных средах. В этих случаях реакция природных систем позволяет выявить скрытые механизмы стабильного функционирования и их адаптационные возможности.

Вызванные химическим загрязнением процессы трансформации следует рассматривать как естественную реакцию природных систем, имеющую следствием микроэволюционные преобразования на популяционном и биоценотическом уровнях. С точки зрения экологии подобные химически деградированные системы представляют собой естественный полигон для изучения быстрых микроэволюционных процессов, основанных на видовой норме реакции и диапазоне изменчивости популяционных процессов. Адаптивные возможности систем, подверженных химическому влиянию, поддерживаются за счет биологической пластичности и популяционной внутривидовой разнородности природных популяций животных и растительных ценопопуляций. В этом заключается общебиологическое значение экологической токсикологии.

Таким образом, в условиях химического загрязнения одним из важнейших проявлений адаптационных процессов является направленное изменение эколого-генетической структуры природных популяций, позволяющее им выполнять свои биогеоценотические функции в изменившихся условиях среды. Такая модификация структуры возникает в результате взаимодействия токсического фактора и природных популяций, исходно характеризующихся полиморфизмом.

Крупнейший ученый эпохи Ренессанса Парацельс (1493–1541), впервые поставивший на научную основу проблему токсического действия химических веществ, писал: «Что является и что не является ядом? Все вещества являются ядами, и не бывает вещества без ядовитости. Только доза определяет ядовитость». Таким образом, крупнейший врач древности подвел итог предшествующего опыта человечества, длительно контактирующего с токсическими факторами среды.

Современная токсикологическая наука под токсичностью вещества понимает имманентную, т.е. внутренне присущую химическому веществу способность оказывать вредное действие, которое проявляется *только при взаимодействии вещества с живым организмом*. При этом из всех видов живых организмов имеется в виду исключительно человек в силу его социального статуса. Предлагаемая в рамках этих направлений система гигиенической регламентации токсических факторов исходит из последовательной антропоцентрической идеологии и на практике в любом случае (даже при эпидемиологическом подходе) ограничивается изучением эффектов прямого токсического влияния на человека того или иного фактора (иногда их комплекса).

Однако более сорока лет назад крупнейший российский токсиколог Н.В. Лазарев указывал: «Нельзя забывать, что изменяющее природу человечество никогда не вырывается все же из-под власти ее законов, из-под ее влияния. Никогда человечество, сколь бы могущественным оно ни стало, не будет чем-то замкнутым в себе. Оно всегда будет существовать в какой-то среде, которая его породила, к которой оно приспособилось разными способами…

Именно поэтому ничто из того, что происходит в этой среде, не может быть безразличным для человечества» (Лазарев, 1966).

Сегодня имеется ясное представление о том, что все происходящее в природе (прежде всего в результате антропогенной деятельности) не может быть безразличным для человечества. Имеется в виду не человек – потребитель природы, а человечество как ее неотрывная часть. Критичным для его судьбы окажется не столько ограниченность ресурсов биосферы, в том числе ее способность к «переработке» продуктов жизнедеятельности, сколько такие следствия развития цивилизации, как химическая деградация природной среды, изменение климата и, в целом, нарастающее экологическое неблагополучие. В свете изложенного очевидно, что традиционные подходы регламентации вредного воздействия на природную среду с помощью действующих гигиенических ПДК не адекватны реальным требованиям экологической регламентации, предполагающей сохранность природной среды. Современные гигиена и токсикология как науки о сохранности здоровья человека и экологическая токсикология в качестве науки о функционировании и стабильности природных систем надорганизменного уровня в условиях химического загрязнения среды, видимо, не могут оперировать едиными критериями даже в случае выбора наиболее жестких из них.

Таким образом, в последние десятилетия проблема химического загрязнения природных систем вышла за рамки прямого влияния на состояние здоровья человека. Вызванная загрязнением деградация природной среды требует разработки новых подходов к обеспечению безопасности существования в изменяющихся условиях и человека, и природной среды. Речь идет не просто об изменении масштабности воздействия на природную среду, необходимы принципиально новые подходы к проблеме регламентации токсического воздействия.

Принципиально изменяется и понятие «загрязнение», включающее в себя все токсические поступления в биосферу продуктов человеческой деятельности. Поэтому антропогенное загрязнение может быть определено как неблагоприятная модификация естественной природной среды, имеющая следствием изменение сложившихся распределений потоков энергии, вещества, радиационного фона и проявляющееся в изменении состояния биоты.

При экологической регламентации в отличие от гигиенических подходов основным объектом нормирования являются природные системы надорганизменного уровня (популяции, сообщества, биогеоценозы). По мнению Л.П. Брагинского, если для отдельного индивидуума смерть означает страшнейшее и последнее поражение в борьбе за существование, то для популяции массовая смертность – всего лишь отсев менее приспособленных и некоторая реорганизация, обеспечивающая ее сохранность (Брагинский, 1981).

В этих условиях именно экологическая токсикология с ее методами изучения и анализа процессов функционирования надорганизменных систем определяет подходы и решения проблем окружающей среды. При этом экотоксикология рассматривает первичные токсические эффекты на молекулярно-генетическом, клеточно-тканевом и онтогенетическом уровнях в качестве спусковых механизмов нарушений природных экосистем на последующих популяционном и биоценотическом уровнях. Это не только сближает концеп-

туально «традиционную» токсикологию с экотоксикологией, но и дает последней основание для использования методологии гигиенического нормирования при оценке и прогнозировании состояния природных систем, подверженных химическому загрязнению.

Среди комплекса наук о биосфере положение экологической токсикологии определяется учением В.И. Вернадского о роли живого вещества в геохимических процессах. Согласно биосферной функции живого вещества, следует говорить о нескольких уровнях биогенных циклов химических элементов, формируемых живыми организмами различной трофической принадлежности. Между этими уровнями в природных экосистемах имеет место своеобразный «геохимический отбор» микроэлементов, обусловленный их неодинаковой биологической доступностью, формой соединений в почвах, спецификой зональных типов растительности, избирательностью процессов их поглощения и депонирования организмами различных трофических групп. Фактически имеет место сложный многоуровневый геохимический «портрет» целостного биогеоценоза и его возможная деформация в процессе антропогенной деятельности.

Участие живого вещества в биогеохимических циклах начинается с уровня продуцентов. Отметим, что элементный состав этого уровня не аналогичен составу почвенного кларка. Это связано с неодинаковой биологической доступностью различных форм химических соединений в почвах, спецификой зональных типов растительности, избирательностью процессов поглощения химических элементов и их соединений растениями.

Подобный же отбор имеет место при включении в биогеохимические циклы организмов следующего уровня – первичных консументов. Этим определяются особенности спектра химических элементов у животных-фитофагов, не совпадающие с почвенными и растительными кларками.

Меньше сведений о накоплении рассеянных элементов животными консументами высших уровней. При этом список анализируемых элементов далеко не исчерпывает все многообразие их химического состава. Как правило, речь идет о неполном геохимическом «портрете» этого уровня экосистем.

Если наличие постоянной интенсивности биогеохимических циклов в естественных, не измененных антропогенной деятельностью биогеоценозах, следует рассматривать в качестве необходимого фактора, обеспечивающего их стабильное функционирование, то деформация этих циклов при химическом загрязнении среды – проявление дестабилизирующих процессов.

Интеграция различных направлений наук о биосфере в настоящее время закономерна. Данные смежных научных направлений, несомненно, обогащают любое исследование и способствуют полному раскрытию механизмов конкретного природного явления.

Вызванное химическим загрязнением среды изменение биоценотической структуры природных систем и связанная с этим трансформация процессов биогенного обмена сближает экологическую токсикологию с науками о Земле. С другой стороны, рассматриваемые экологической токсикологией эффекты надорганизменного и организменного уровней, а также методы их исследования аналогичны соответствующим подходам, применяемым в токсикологии и гигиене.

Вместе с тем успешное развитие любого научного направления невозможно без четкого определения своеобразия объекта исследования, специфических методов и подходов. Отметим, что трудности, связанные с формированием экологической токсикологии в качестве самостоятельного научного направления, – объективны. Они обусловлены тем, что биологические системы надорганизменного уровня представляют собой сообщество многих взаимосвязанных компонент – от почвенных микробных сообществ до популяций крупных животных и высших растений. При этом решающее значение имеет состояние окружающей среды, включая ее геофизические и погодно-климатические параметры. Описание реакции такой сложной системы на химический стресс требует прежде всего фундаментальных знаний о ее функционировании и стабильности при обычных, не подверженных антропогенному влиянию условиях.

Отмеченная сложность природных систем и часто их неоднозначная реакция на различные уровни загрязнения среды чрезвычайно усложняет задачу регламентации этого фактора. Например, экологические системы северных широт и тропические леса не одинаково реагируют на равные уровни загрязнения среды. Это значит, что экологическое нормирование антропогенной нагрузки на природные системы должно иметь «штучный» характер, приуроченный к конкретной экологической ситуации. Между тем проблему регламентации химического загрязнения на природные объекты необходимо решать уже сегодня. Это вынуждает нас часто использовать санитарно-гигиенические нормативы.

Возникновение нового научного направления – экологической токсикологии – является следствием острейшего социального заказа современного общества. При всей ценности организации санитарно-гигиенического нормирования нельзя ожидать, что когда-нибудь будет предложена аналогичная единая система экологических нормативов. Уникальность каждого природного объекта, подлежащего защите от действия токсических факторов среды, вместе с экологическим разнообразием живых организмов и спецификой природно-климатических и географических зон требуют индивидуального подхода, приуроченного к конкретному виду химического загрязнения и для конкретной природной ситуации.

Естественно, что описание реакции такой сложной системы на химическое загрязнение среды, выраженное в форме аналога зависимости «доза – эффект», требует достаточных знаний о функционировании таких систем.

Решение проблем экологической токсикологии неразрывно связано с общими успехами всех разделов экологической науки.

ЧАСТЬ I

ОБЩИЕ ВОПРОСЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

Глава **1. Аутэкологические аспекты экотоксикологии**

Глава **2. Популяционные и биогеоценотические аспекты экотоксикологии**

Глава **3. Общая экотоксикологическая характеристика загрязняющих веществ**

Глава **4. Экотоксикология органических загрязняющих веществ**

Глава **5. Экотоксикология тяжелых металлов**

ВВЕДЕНИЕ

Междисциплинарный характер экотоксикологии предполагает широкий охват проблем химического загрязнения окружающий среды – от реакций отдельных организмов (аутэкологический аспект) до влияния ксенобиотиков на совокупности организмов (популяции и сообщества). Чем сложнее уровень организации живой материи, тем менее очевидными становятся доза-зависимые отклики биосистем. Эмерджентные свойства популяций и, тем более, сообществ существенно демпфируют и усложняют токсические эффекты ксенобиотиков, достаточно надежно интерпретируемые на уровне отдельных организмов.

Тем не менее введение в экотоксикологию целесообразно начать именно с аутэкологических аспектов (глава 1), что позволяет установить внутреннюю логическую связь с традиционной экологией, с одной стороны, и токсикологией – с другой.

Демэкологический (популяционный) и синэкологический (биоценотический) уровни организации биосистем и особенности их реагирования на химическое воздействие рассматриваются в главе 2. Базирующиеся на фундаментальных принципах экологии и токсикологии, популяционная экотоксикология и, тем более, экотоксикология сообществ пока находятся в начале своего становления и интенсивно развиваются.

К концу XX века химическая нагрузка на окружающую природную среду достигла критических пределов. В главах 3–5 обсуждаются некоторые актуальные примеры. Так, привычные свалки твердых бытовых отходов давно стали неотъемлемым атрибутом как мегаполисов, так и небольших поселений. Однако накопление мусора (отходов) перерастает в глобальную проблему планетарного масштаба: мы с тревогой говорим о «космическом мусоре», горы мусора плавают в Мировом океане, вопрос об «арктическом мусоре» решается на государственном уровне. Не меньшую тревогу вызывают экотоксикологические проблемы, связанные с разливами нефти, компонентами ракетного топлива и проблемой уничтожения химического оружия. Охватить в рамках одной книги все эти и многие другие не менее важные вопросы не представляется возможным, но нельзя еще и еще раз не обратить внимания на необходимость их решения.

Глава 1

АУТЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ

1.1. ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ В СИСТЕМЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Экстенсивный характер развития производительных сил общества имеет следствием растущую деградацию природной среды. Острота современной ситуации находит отражение в повышенном внимании к проблемам экологии. При несомненной оправданности этого интереса мы отмечаем часто неоправданное тиражирование термина «экология», при котором эта биологическая наука рассматривается в качестве некоторой панацеи от всех бед современного общества. Подобное «размазывание» границ научного направления, несомненно, не способствует решению конкретных проблем сохранности природной среды. Для решения этой задачи необходима строгость в определении предмета экологии и ее специфических методов. В равной мере это относится и к новому направлению экологической науки – ***экологической токсикологии, или экотоксикологии.***

Термин *экотоксикология* появился незадолго до Стокгольмской конференции 1972 года. К этому времени стало очевидно негативное влияние человеческой деятельности на природные системы и самого человека. Отмечены многочисленные факты поражения лесных экосистем под влиянием выбросов металлургических предприятий (в Великобритании – район Манчестера, в Германии – Рур и др.). Стали известны случаи загрязнения водных объектов и вызванные этим заболевания населения (например, болезнь Минамата в Японии и др.). Общество осознало опасность широкого применения в сельском хозяйстве пестицидов. Накоплен большой опыт по диагностике и лечению отравлений человека металлами и рядом органических соединений, включая боевые отравляющие вещества.

Заметим, что в эти годы активно разрабатываются такие важные для экологической токсикологии направления, как химический и радиационный мутагенез, эндемические заболевания человека и сельскохозяйственных животных, радиобиология.

Экологическая токсикология как термин, определяющий самостоятельное научное направление, введен в 1976 году, когда при Международном научном комитете по проблемам окружающей среды (СКОПЕ) была организована специальная Рабочая комиссия по экологической токсикологии. Позднее, в 1978 году, на конференции СКОПЕ было принято определение экотоксикологии как «***междисциплинарного научного направления, связанного с изучением токсических эффектов действия химических веществ на живые организмы, преимущественно на популяции организмов и биоценозы, входящие в состав экосистем. Она изучает источники поступления вредных веществ***

в окружающую среду, их распространение в окружающей среде, действие на живые организмы. Человек, несомненно, является наивысшей ступенью в ряду биологических мишеней».

Рисунок 1.1 дает представление о месте о взаимосвязи экотоксикологии с биологическими науками и науками о земле.

Рис. 1.1. Экотоксикология в системе научного знания (Моисеенко и др., 2011)

В приводимом определении следует особо подчеркнуть надорганизменный характер изучаемых экотоксикологических эффектов (популяционных, биогеоценотических). Упоминание человека в качестве «биологической мишени», с нашей точки зрения, требует комментариев.

Известно, что человек находится в центре изучения всех направлений медицинской науки, включая токсикологию и гигиену. Именно в задачу последних входит оценка опасности факторов окружающей среды (производственной, коммунальной), включая антропогенное ее загрязнение. Предлагаемая в рамках этих направлений система гигиенической регламентации токсических факторов исходит из последовательной антропоцентрической идеологии и на практике в любом случае (даже при эпидемиологическом подходе) ограничивается изучением эф-

фектов прямого токсического влияния того или иного фактора (иногда их комплекса) на человека. Концепция антропоцентризма предполагает рассмотрение человека главным или часто единственным объектом, на который воздействуют токсиканты. При этом предполагается, что если человек защищен гигиеническими стандартами, то оказывается защищенной и окружающая природная среда. Однако сегодня при определении экологической токсикологии мы исходим из ясного понимания того, что и Человек как биологический вид, и Человечество как социальное явление в конечном счете страдает не только от непосредственного неблагоприятного воздействия антропогенных факторов, но рано или поздно от вызываемых этими же факторами существенных, а то и необратимых нарушений состояния природных биогеоценозов и биосферы в целом. Фактически речь должна идти об экоцентристской концепции, согласно которой благополучие человека возможно только в сохраненной природной среде. В свое время Н.В. Тимофеев-Ресовский писал, что сохранить то состояние биосферы, которое существует на данный момент – наша главная задача, потому что биосфера настолько сложная система, что нарушение границ ее устойчивости может привести к принципиально новому состоянию. Это состояние необязательно будет худшим, но оно будет другим и пока непредсказуемым. А человек должен жить в предвидимом будущем.

Многочисленные исследования, например, показывают, что последствия ядерного конфликта были бы трагичны для природной среды и человека во всем мире. Но не все представляют себе, что энергия всех ядерных зарядов меньше, чем энергия, вырабатываемая ежегодно всеми энергетическими установками в мире. Фактически человечество живет в состоянии, энергетически эквивалентном продолжающейся ядерной войне. При этом в своем взаимодействии с природой человек длительное время пребывал в плену иллюзий, что:

- возможно создание такой социальной системы, когда будет обеспечен высокий уровень благосостояния всего населения земного шара;
- при этом можно не ограничивать численность живущих на Земле;
- природная среда при этом будет сохранена.

Сегодня ясна необоснованность подобных упований. Обеспокоенная состоянием природной среды общественность и журналисты подняли тревогу.

Среди комплекса биологических, медицинских и технических дисциплин, призванных решать проблему токсического загрязнения природной среды ведущее место принадлежит экологии.

Первоначально сфера химического загрязнения ограничивалась пространством бытовой и производственной деятельности человека. Проблемы негативного воздействия на млекопитающих токсических факторов среды, включая химическое загрязнение, решалась дисциплинами медико-биологического направления: общей и частной токсикологией, промышленной и коммунальной гигиеной, гигиеной питания и т.д.[2] При этом под ***токсикологией*** (toxicon –

[2] Достижения в этих областях связаны с работами выдающихся деятелей отечественной токсикологии: А.П. Нелюбина, Е.В. Пеликана, И.М. Сорокина, Н.П. Кравкова, Г.В. Хлопина, В.И. Глинчикова, С.В. Аничкова, В.М. Карасика, Н.В. Лазарева,

яд) мы понимаем ***раздел медицинской науки, изучающей свойства ядовитых веществ, механизмы их действия на живые организмы, сущность вызываемого ими патологического процесса, методы его лечения и предупреждения.*** Речь идет об обеспечении безопасных условий для человека при прямом токсическом влиянии токсических факторов среды. Подобные исследования включали изучение токсических проявлений на молекулярно-генетическом, клеточно-тканевом и организменном уровнях. Выше мы отмечали, что направленность на человека полностью оправданна в силу его особого социального статуса и потому, что именно человек впервые столкнулся с повышенными уровнями токсических веществ в окружающей бытовой и производственной среде. Лабораторные животные традиционно рассматривались как модели человеческого организма. Как ни парадоксально, сегодня человек с точки зрения токсикологии наиболее изученный биологический объект. В определенном смысле его можно рассматривать в качестве модели любого иного живого организма.

Наиболее ранним документом, свидетельствующим о знаниях древних о ядах, считают Эберский папирус, написанный примерно за 1500 лет до н.э. Он содержит сведения о некоторых ядах, широко известных и в наше время (например, мышьяк). Не случайно также то, что в греческой мифологии бог кустарничества изображался в виде колченогого человека с искривленным позвоночником. Уже в древние времена было известно, что пары металлов негативно влияют на развитие скелетных тканей.

Целью подобных исследований было установление безопасных уровней воздействия токсических факторов на человека. Более 100 лет назад были введены первые ПДК для хлористого водорода в воздухе для промышленных условий.

В 1922 г. Наркомат труда СССР утвердил первые ПДК химических веществ, в 1941 г. было утверждено уже 80 ПДК, в настоящее время таких утвержденных регламентов насчитывается уже более 1000.

Сегодня ***под предельно-допустимыми концентрациями (ПДК) вещества понимается такая его концентрация в атмосфере, воде, почве, продуктах питания, воздействие которой не может вызвать заболеваний или отклонений в состоянии здоровья, обнаруживаемых современными методами исследования в процессе работы или в отдаленные сроки настоящего и последующих поколений.***

Вводимые регламенты не являются чем-то раз и навсегда установленным. По мере расширения наших познаний о патологических процессах, по мере улучшения методов диагностики и при увеличении контингента лиц, подвергаемых действию токсических веществ, ПДК периодически пересматриваются (табл. 1.1). Например, допустимая концентрация анилина в воздухе за последние 40 лет была снижена в 1000 раз!

Н.С. Правдина, А.И. Черкеса, С.Н. Голикова, Л.А. Тиунова, Ф.П. Тринус, Ю.С. Кагана, Г.А. Степанского, Б.М. Штабского, А.Г. Красовского, С.П. Черкинского и многих др.

Таблица 1.1

Значения ПДК некоторых веществ

Год введения ПДК	ПДК для воздуха производственных помещений, мг/м^3		Предельно-допустимая мощность дозы ионизирующей радиации	
	бензол	анилин	год введения	бэр/неделя
1930	200	100	1924	1,5
1954	50	5,0	1934	1,0
1964	20	3,0	1950	0,3
1972	5	0,1	1956	0,1

Очевидная ориентация медиков-гигиенистов на защиту человека через использование системы ПДК предполагает возможность поступления токсических веществ по пищевым цепочкам. Например, регламентация содержания химических веществ в почвах основана на возможности их поступления в продукты питания. Но при этом не предусматривается защита составляющих почвы (почвенной фауны, микроорганизмов, водорослей и т.д.), определяющих плодородие этого, по В.И. Вернадскому, биокосного компонента, не ставится вопрос о влиянии загрязненных почв на растения и животных, обитающих на этих участках.

Формулировка Международной комиссии по радиационной защите (МКРЗ), согласно которой «если защищен человек, то окружающая среда защищена автоматически» не всегда очевидна.

Очевидно, что предпринимаемые попытки свести регламентацию вредного воздействия на природную среду к действующим гигиеническим ПДК не адекватны реальным требованиям экологической регламентации. Современные медицинская гигиена и токсикология – это науки о сохранности здоровья человека. *Экологическая токсикология – это наука о функционировании и стабильности природных систем надорганизменного уровня в условиях химического загрязнения среды.* Подлежит осознанию тот факт, что они не могут оперировать едиными критериями даже в случае выбора наиболее жестких из них. Таким образом, последние десятилетия проблема химического загрязнения природой среды вышла за рамки прямого влияния на состояние здоровья человека. Вызванная загрязнением деградация природной среды требует разработки новых подходов к обеспечению безопасности существования и человека, и природной среды. Речь идет не просто об изменении масштабности воздействия на природную среду, необходимы принципиально новые подходы к проблеме регламентации токсического воздействия.

Принципиально изменяется и понятие «загрязнение», включающее в себя все токсические поступления в биосферу продуктов человеческой деятельности.

В этих условиях именно экология с ее методами изучения и анализа процессов функционирования надорганизменных систем определяет подходы и решения проблем окружающей среды. Сегодня мы являемся свидетелями формирования новой ветви экологической науки – экологической токсикологии.

Самостоятельность любого научного направления, в нашем случае экологической токсикологии, определяется следующими необходимыми компонентами.

Определяющим **предметом** экологической токсикологии являются биологические системы надорганизменного уровня, подверженные действию антропогенного загрязнения. Ее теоретической основой служат фундаментальные закономерности структуры и функционирования природных систем популяционного и биогеоценотического уровней. Важнейшее значение имеет общая концепция устойчивости и стабильности этих природных систем.

Изложенное определяет своеобразие **методики и подходов** экологической токсикологии. Физиологические, биохимические, функциональные и другие эффекты, вызванные токсическим фактором, рассматриваются в качестве первичных эффектов, имеющих следствием нарушение популяционных и биоценотических механизмов. Экологическая токсикология использует традиционные методы экологии, но важнейшее значение имеют:

- Лабораторные эксперименты с затравкой животных и растений в климатических камерах и мезокосмах.
- Эксперименты и наблюдения в природных биогеоценозах, подверженных влиянию антропогенного загрязнения.
- Математическое моделирование и экстраполяция.

Задачей экологической токсикологии является разработка теоретических, основополагающих концепций взаимодействия человека с природными экосистемами.

Каждое научное направление базируется на основополагающих достижениях смежных наук, прежде всего на фундаментальных достижениях экологии и медицинской токсикологии. Современная экотоксикология исходит из основных положений экологии популяций, генетики популяций, концепции биогеоценоза, медицинской токсикологии и гигиены.

Особенностями экологической токсикологии является то, что биологические системы надорганизменного уровня сложны и динамичны. При этом велика роль окружающей среды в реализации экотоксикологических эффектов. Под влиянием токсических факторов признаки поражения могут обнаруживаться на всех уровнях организации биологических систем от молекулярно-генетического до биогеоценотического. Наиболее важными представляются следующие:

- частота хромосомных нарушений,
- изменение активности ферментов,
- снижение репродуктивных возможностей,
- повышенная гибель особей,
- изменение структуры популяции, видового состава и продуктивности биоценозов, и т.д.

Изучение подобного широкого спектра явлений – задача комплексная, требующая участия широкого круга специалистов и методов исследования.

Близкие задачи решает и смежное направление экологической науки: *биоиндикация* состояния природных систем. В отличие от экологической токсикологии в рамках биоиндикации фиксируется оперативное состояние биологических систем, подверженных антропогенному влиянию. Изучение механизмов поражения и прогноз будущего таких систем не является задачей собственно биоиндикации (табл. 1.2).

Таблица 1.2

Различия экологической токсикологии и биоиндикации природных систем (Покаржевский, 1985)

Биоиндикация	Экотоксикология
Эффекты любых факторов, включая токсические	Эффекты токсических факторов
Оценка влияния природных и антропогенных факторов, как правило, постфактум	Оценка, в первую очередь, антропогенных факторов. Прогностические (преимущественно) оценки
Диагностические оценки	Оценки риска

Часто экологическую токсикологию сводят к изучению содержания токсических веществ в объектах природной среды и их потоков. Сегодня для систем различных уровней организации накоплено обильное количество подобных данных. Однако этого недостаточно. Важна оценка значимости этих показателей для судьбы популяции или биоценоза.

Изучение природных систем, оказавшихся под интенсивным антропогенным прессом, представляет нам очень важную информацию о том, как функционируют природные системы в нормальных условиях. Место экологической токсикологии в системе биологических наук определяется тем, что вызванные химическим загрязнением процессы трансформации природных систем представляют собой естественную реакцию, которую можно рассматривать в качестве микроэволюционных преобразований на популяционном и биоценотическом уровнях. С точки зрения экологии подобные химически деградированные системы следует рассматривать в качестве естественного полигона для изучения быстрых микроэволюционных процессов, основанных на видовой норме реакции, диапазоне изменчивости популяционных процессов, а также на определяемых ими адаптивных возможностях изучаемых систем. Как следствие, стабильность подверженных химическому влиянию биологических систем различного уровня поддерживается за счет биологической пластичности и популяционной внутривидовой разнородности природных популяций животных и ценопопуляций растений различных жизненных форм.

1.2. ПРОБЛЕМА НОРМЫ В ЭКОТОКСИКОЛОГИИИ

Понятие нормы является основополагающим в медицинской и экологической токсикологии, требующим конкретного количественного выражения, поскольку определяет чрезвычайно важную грань, отделяющую «нормальное» функционирование системы от «ненормального» (патологического) состояния.

Традиционно понятие нормы связано с медицинской токсикологией, т.е. с эффектами онтогенетического уровня. Еще в древние времена патологией (уродством) считался всякий признак, который не обнаруживался у большинства особей. Иными словами, норма трактовалась как обычное, массовое проявление признака.

Сегодня определены границы нормы практически для всех морфологических, функциональных и физиологических параметров человека, основанные

на данных многолетних исследований. Подобные «нормы» существуют для большинства лабораторных животных (лабораторные мыши и крысы, кролики и прочие), которые используются в медицине в качестве модели человеческого организма.

Как отмечали выше, чаще всего в качестве нормы применяется диапазон, равный двум стандартным отклонениям от среднего значения ($M \pm 2s_m$). Поскольку этот диапазон охватывает практически всю выборку (95%), выход за его пределы диагностируется как проявление поражения. В некоторых случаях интервал нормы определяется при помощи критерия Стьюдента

$$M \pm tm,$$

где m – ошибка среднего, а конкретное значение параметра t находят с учетом числа наблюдений и принятого уровня доверительной вероятности.

Принцип ориентации на обеспечение безопасности людей отражает наше антропоцентрическое мировоззрение и, как правило, оправдан. Однако остается открытым вопрос, всегда ли и в какой мере нормативы, установленные для человека, обеспечивают защиту других объектов живой природы. Ведь изменение качества природной среды за счет обеднения видового состава, снижение устойчивости и даже частичная деградация экосистем тоже имеют следствием ухудшение условий существования человека.

Следует отметить, что теория нормы применительно к биологическим системам надорганизменного уровня разработана в настоящее время недостаточно. В широком практическом плане перед человеком всегда стояла проблема: что, где и сколько можно позволить при взаимодействии с природой. Требовалось подбирать для земледелия соответствующие культуры, соблюдать агротехнику, сроки и норму высева, регулировать интенсивность полива, пастбищных нагрузок и т.д. Добавим к этому широкую практику лесоустройства и охотоустройства, использование расчетных лесосек, норм отстрела и вылова и т.д.

Вопросы нормы и ее обоснования должны занимать центральное место в экологических исследованиях. Проблема экологического нормирования может быть сведена к решению двух кардинальных вопросов: что подлежит нормированию и как реализовать процедуру такой регламентации. Важно, чтобы экологическое нормирование было ориентировано не на степень и качество конкретных видов воздействия на природные комплексы, а на реакцию биологических систем.

Опыт диагностики состояния биологических систем любого уровня показывает, что норма не может быть сведена к простой совокупности среднестатистических величин, характеризующих ее основные функциональные параметры. В этой связи вопрос об основных принципах формализации биологической значимости показателей и параметров не определен, и задача диагностики состояния системы как целого объекта представляется достаточно неопределенной. *С одной стороны*, мы исходим из того, что воздействующие уровни токсических веществ могут быть признаны бездействующими только в том случае, если вызываемые ими изменения не выходят за пределы статистической нормы. *С другой* – именно статистический подход к определению

границ нормы предполагает некоторый произвол при выборе статистических критериев значимости различий (Воробейчик и др., 1994).

Если для онтогенетического уровня существует абсолютный показатель крайней патологии – это гибель организма, то для систем более высокого ранга такой подход неприемлем.

При экологической регламентации необходимо учитывать следующие обстоятельства:

1. Основным объектом нормирования являются природные системы надорганизменного уровня (популяции, сообщества, биогеоценозы). Сегодня подобный подход считается общепринятым. Например, в публикации № 26 (1978) Международного комитета по радиационной защите отмечается: «В качестве международного норматива принят такой уровень радиации, который необходим для защиты человека, достаточен для защиты других живых существ, хотя и *необязательно отдельных особей*».

2. Существует своеобразный резерв наследственно закрепленной внутривидовой изменчивости, который проявляется, с одной стороны, в широком спектре реакций отдельных субпопуляционных группировок на химическое загрязнение среды, с другой – обусловлен наличием специфических популяционных механизмов компенсации неблагоприятных изменений структуры и функции популяции, вызванных загрязнением. Этот резерв является необходимой компонентой нормы реакции популяции на токсическое воздействие.

3. Экологические нормы должны исходить из потенциально возможного существования в биологических системах различных состояний (стабильных, нестабильных) и различных типов динамики объектов нормирования.

Методами математического моделирования доказано, что существует некоторый критический диапазон величины действующего токсического фактора, при котором возможно резкое качественное изменение системы при незначительных изменениях ее состояния или силы внешнего воздействия (диапазон А–В на рис. 1.2). Эти особенности вытекают из нелинейного характера взаимосвязей в экологических системах. Отметим, что поиск границ устойчивости таких, подверженных токсическому влиянию систем, ведется в условиях, когда существует объективная неопределенность.

Рис. 1.2. Реакция биологических систем на уровень токсической нагрузки

Это означает, что изменения поддающихся контролю параметров экологических систем в области, близкой к критической точке (точка сингулярности С на рис. 1.2), происходит медленно, и заметить переход через эту точку чрезвычайно трудно, зачастую практически невозможно. Быстрое же (заметное!) изменение этих характеристик свидетельствует об уже начавшемся катастрофическом переходе системы к другому состоянию. Возвращение системы к исходному состоянию невозможно или требует принятия специальных мер.

4. Последнее обстоятельство делает проблему определения нормы достаточно неопределенной. Это связано с неизбежной антропоцентрической позицией, требующей, в первую очередь, максимального удовлетворения потребностей человека. С другой стороны, существуют объективные закономерности функционирования таких систем и необходимость выполнения ими специфических функций в системах более высокого ранга. Смена доминант в экосистемах – не патологический процесс, а определенная форма стабилизации биогеоценоза в новых условиях. Практически всегда такой критический переход ведет не к полному разрушению системы, а к перестройке, часто не соответствующей сегодняшней потребности человека.

5. В процессе эволюционного развития у растительных и животных организмов закреплена способность адекватно реагировать на изменения среды обитания, вызываемые влиянием природно-климатических факторов. В любом случае такая компенсация «традиционного» влияния в рамках природно-климатической нормы направлена на поддержание стабильности биологической системы. Естественно, что понятие нормы должно включать эти адаптационные возможности системы. Речь должна идти о некотором диапазоне значений параметров, характеризующих функционирование системы при возможных колебаниях природных факторов.

Характерным показателем нормы биологической системы является способность последней так изменять свои функциональные параметры, чтобы поддерживать себя в условиях оптимума в изменяющейся среде.

6. Важнейшей является проблема выбора масштаба объекта, подлежащего регламентации. Локальное воздействие может быть велико, но пространственные связи в природных комплексах могут в определенной степени компенсировать их на уровне природных комплексов более крупного масштаба. Возможна и обратная ситуация.

7. Многолетний успешный опыт токсикологов и гигиенистов показывает, что одним из путей решения проблемы допустимых токсических нагрузок является широкое применение методов лабораторных аналогов с последующей экстраполяцией полученных данных на природные объекты. В экологической токсикологии в качестве экспериментальной основы такой экстраполяции следует рассматривать результаты, получаемые в лабораторных условиях (аквариумные эксперименты, виварная затравка животных, климатические камеры). В качестве эмпирической основы можно использовать также данные, получаемые при изучении химически деградированных территорий. Кроме этого, в последнее время большое внимание уделяется так называемым природным экспериментам, в которых биоценозы изолируются и подвергаются дозированным токсическим нагрузкам. В этом случае ряд биоценотических характеристик остается идентичным та-

ковым в оставшейся части ценоза, которую можно рассматривать как контроль. К сожалению, не существует теории экстраполяции данных, полученных эмпирическим путем, на конкретные изучаемые условия. Это связано с объективными трудностями, прежде всего с отсутствием завершенных теорий организации и функционирования систем надорганизменного уровня.

Таким образом, в современных условиях, характеризующихся интенсивным антропогенным давлением на природные системы, сохранение их в неизменном виде является необходимым для обеспечения стабильности биосферы. Поэтому оптимальность управления биогеоценозами должна пониматься не только с позиций человечества, но и с позиций всей биосферы, включающей человечество.

Подобный подход принят официальными документами. Так, на рабочем совещании ЕЭК[3] ООН было принято определение критической нагрузки на биогеоценоз: *«Это количественная оценка воздействия одного или нескольких загрязняющих веществ, ниже которой не происходит существенного вредного воздействия на специфические, чувствительные элементы окружающей среды в соответствии с современными данными».*

С точки зрения геохимического подхода к проблеме такая критическая нагрузка – это максимальное поступление загрязняющих веществ (тяжелых металлов, серы, органических веществ и проч.), которое не вызывает необратимых вредных изменений в биогеохимической структуре и функциях экосистем в течение длительного, 50–100-летнего, периода.

1.3. ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НА РАЗНЫХ УРОВНЯХ ОРГАНИЗАЦИИ БИОСИСТЕМ

В современной биологии выделяют следующие основные уровни организации, в соответствии с которыми рассматриваются эффекты химического поражения биологических систем.

1. На *молекулярно-генетическом* уровне происходит репродукция в неизменном виде молекулярных структур, ответственных за жизненные процессы, в которых закодирована генетическая информация. Этими структурами обеспечивается передача наследственной информации, поэтому молекулярно-генетический уровень считается элементарной основой эволюции. С точки зрения экологической токсикологии на этом уровне возможно нарушение генетических структур соматических и половых клеток, что проявляется в появлении доминантных и рецессивных мутаций.

2. *Клеточно-тканевый* уровень ответственен за пространственное и функциональное разграничение процессов жизнедеятельности. При воздействии токсических факторов происходит дифференциация токсического эффекта, специфичность которого проявляется по отношению к различным тканям и органам.

---

[3] Евразийской экономической комиссии.

Рис. 1.3. Схема объектов в экотоксикологических исследованиях
(Моисеенко и др., 2011)

3. *На онтогенетическом уровне* осуществляется декодирование и реализация генетической информации, завершающейся в конце становлением фенотипических признаков. На этом уровне реализуются структурные и функциональные особенности организма. Экотоксикологические эффекты проявляются в виде различных постнатальных заболеваний, врожденных дефектов развития и даже ведут к летальному исходу.

4. *На популяционно-видовом уровне* изменения, возникающие на предшествующих уровнях, приводят к выработке новой адаптационной нормы, что в перспективе ведет к эволюционным преобразованиям. При токсическом загрязнении среды обитания может иметь место изменение пространственно-функциональной структуры популяции и, как следствие этого, популяционной адаптации к токсическим факторам.

5. *На биогеоценотическом уровне* осуществляется вещественно-энергетический круговорот, формируемый в результате жизнедеятельности живых организмов. При токсическом загрязнении среды токсиканты вовлекаются в круговорот, что может привести к деформации естественных потоков вещества и энергии и, как следствие к деградации природной среды, часто выходящей за пределы зоны прямого токсического воздействия.

1.3.1. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ

Сегодня установлено, что мутагенной активностью обладают большинство из тех более 70 тыс. химических веществ и соединений, поступающих в окружающую среду, с которыми сталкивается человек в повседневной жизни.

Мутагенная активность – это способность химических веществ или иных физических факторов вызывать изменение генетической структуры клетки. Под воздействием мутагенов могут возникнуть следующие дефекты:

- Изменение числа хромосом (геномные мутации).
- Нарушение структуры хромосом (хромосомные мутации).
- Изменения внутри наследственных структур (ДНК, РНК).

Различают доминантные мутации, способные проявиться уже в первом поколении или в первой генерации клеток. Эффект рецессивных мутаций может проявиться лишь через несколько поколений. Рецессивные мутации по этой причине трудно диагностировать в кратковременном исследовании.

Результатом воздействия мутагенов на геном *соматических клеток* и накопления в тканях хромосомных нарушений могут быть онкологические заболевания.

Воздействие на геном *половых клеток* может привести к наследственным заболеваниям, а также к внутриутробной гибели плода, тератогенным проявлениям, спонтанным абортам и мертворождению.

Способностью вызывать мутации у млекопитающих обладают многие обычные вещества (красители, перекиси, формальдегиды, ряд лекарственных препаратов, ионизирующие излучения.). Особо остро стоит проблема с применением пестицидов, 90% которых обладают мутагенностью (Федоров, Яблоков, 1999). Сложность выявления мутагенной активности этих соединений связана с тем, что часто активностью обладает не сам первичный препарат (пестицид), а продукт его трансформации во внешней среде или внутри живого организма. Например, атразин и цианозин (гербициды) не показывают мутагенного эффекта, но в листьях кукурузы при их распаде образуются активные мутагены. Использование листьев кукурузы в качестве кормового объекта в этом случае может вызвать поражение организма животных.

Для широко применявшегося еще недавно пестицида ДДТ характерна высокая мутагенность его метаболитов (ДДТ, ДДЕ, ДДД, ДДА). Именно это обстоятельство привело к запрету на использование этого препарата в сельском хозяйстве. Высокой токсичностью обладают химические примеси, содержащиеся в пестицидах. Из них наиболее опасны так называемые диоксины (2,4-Д; 2,4,5-Т), неизбежно входящие в состав готовой пестицидной продукции.

Упомянем также токсичность нитратов (аммиачная селитра), которые в организмах млекопитающих образуют метаболиты-нитрозамины, обладающие сильным мутагенным действием.

Особая опасность мутагенов заключается в том, что все они не обладают порогом токсического действия. Любые самые малые дозы этих соединений вызывают мутагенный эффект. Это обстоятельство необходимо учитывать, когда мы говорим об общей мутагенности среды обитания, которая может быть оценена по количеству хромосомных нарушений в клетках животных, обитающих в конкретных условиях. Если такой мутагенный мониторинг ведется на синантропных животных, близких по биохимическим, физиологическим и иным параметрам к человеку и обитающих рядом с ним (например, домовая мышь), то можно говорить о мутагенной опасности для населения.

1.3.2. КЛЕТОЧНО-ТКАНЕВЫЙ УРОВЕНЬ

Возможны два пути преобразования загрязняющих веществ с точки зрения локализации антропогенных веществ клеточно-тканевым уровнем систем:

1. Включение веществ в общий метаболизм. Речь идет о таких загрязнителях, как окислы серы, азота.
2. Аккумуляция токсических веществ внутренними структурами клетки. Как следствие этого – изменение интенсивности обменных процессов в клетке, главным образом ферментативных.

Можно говорить о следующих последствиях перечисленных процессов:

А. *Влияние на обмен веществ в живой клетке*

- *Нарушение синтеза белков.* Это проявляется через уменьшение содержания растворимых белков-ферментов за счет либо пониженного их синтеза, либо – повышенного распада. В растительных клетках это ведет к увеличению содержания пролина (один из надежных индикаторов токсичности), что связано с повышенным синтезом этой аминокислоты. Отмечают также повышенное содержание аланина в хвое при загрязнении атмосферы сернистым газом.
- *Нарушение обмена углеводов*, как результат нарушения обмена сахарозы, глюкозы, фруктозы. Содержание углеводов возрастает под влиянием токсической нагрузки.
- *Изменение метаболизма липидов*. Нарушается состав жирных кислот, в результате увеличивается содержание метаболитов липидного обмена (возрастание содержания линолевой и линоленовой кислот).

Б. *Воздействие на биомембраны клетки.*

Влияние тяжелых металлов, окислов серы, азота и металлов, органических поллютантов (ПАВ) проявляется в нарушении структуры мембран и их функций. Как следствие этого отмечено:

- *Нарушение проницаемости мембран* за счет нарушения биосинтеза молекул в их структуре. Эффект связан со строением и составом бимолекулярной липидной пленки мембран. Так, под воздействием большинства пестицидов, металлов (медь), озона и ряда других агентов за счет перекисного окисления липидов увеличивается проницаемость мембран. Сернистый газ, например, действует прежде всего на устицы листа, нарушая тем самым водный режим растения. Этот газ и окислы азота диффундируют через межклеточные пространства и в зависимости от pH образуют в межфибриллярной воде клеточных стенок серные и азотные кислоты, поражающие клеточные структуры.
- *Истощение ресурсов биологически активных молекул*. Нарушение проницаемости клеточных мембран ведет, прежде всего, к истощению ресурсов естественных антиоксидантов. Этот эффект проявляется в снижении активности тиоловых групп белков, следствием чего является подавление активности ферментов, нарушение транспорта ионов калия и натрия через мембраны. Такие механизмы поражения отмечены в печени при воздействии диоксинов.

Иногда отмечают обратные процессы – повышение активности ферментов (например, трансферазы у крыс) под влиянием пестицидов.

- *Фотодеструкция хлорофиллов*, выраженная в подавлении процессов передачи энергии от молекул хлорофилла к следующим структурам. Задержка поглощенной энергии в электронно-транспортной цепи ведет к фотодеструкции хлорофилла. Проявлением этого процесса являются хлороз и некроз листовой пластинки. Интересно, что повышенная устойчивость сорных растений связана с тем, что они имеют несколько измененный, более стабильный белок хлоропластной мембраны.
- *Нарушение в хлоропластах растений* и связанное с этим нарушение биоэнергетики за счет снижения синтеза соединений, важнейших для обеспечения энергетики метаболизма (АТФ, неорганического фосфата, калия и др.). Следует отметить, что многие токсические вещества действуют на уровне клеточных структур неспецифическим образом, нарушая или дезорганизуя генетическую, мембранную или белково-ферментную системы клетки.

Отмеченные выше экотоксикологические эффекты в клетках неизбежно реализуются на тканевом уровне. Живой организм способен поддерживать свою целостность несмотря на то, что он находится в состоянии постоянного самовозобновления. Этот процесс осуществляется за счет клеточного деления. Любая биологическая система этого уровня должна иметь самоподдерживающийся резервуар недифференцированных (незрелых) клеток – предшественников функционально зрелых, выполняющих важнейшие физиологические и биохимические функции в организме. Незрелые клетки лишь поставляют зрелые, когда последние в силу естественных или вызванных внешним воздействием причин истощаются и погибают.

Гибель организма связана, прежде всего, не с тем, что зрелые клетки перестают функционировать, а с тем, что организм недостаточно снабжается функционально зрелыми клетками. Отмечается снижение количества зрелых клеток ниже допустимого уровня, при котором орган или ткань перестают выполнять в полном объеме необходимые функции.

Таким образом, отдельная функционально зрелая клетка даже после относительно больших доз токсиканта может выжить и выполнять свои функции. Если орган состоит из зрелых клеток с очень низкой, практически нулевой скоростью обновления (нервные ткани!), то он выдерживает достаточно большие дозы. Такая система резистентна.

Известно, что период обновления клеток крови (лейкоциты) у человека не более 20 суток, желудочно-кишечного эпителия – 8-10 дней, кожных покровов – 14 суток, скелета – 7 лет.

Наиболее детально сегодня изучена реакция клеточных систем человека в случае воздействия радиационного фактора. Можно отметить несколько синдромов реакции млекопитающих на острое лучевое воздействие.

Костно-мозговой синдром. Реакция организма обусловлена высокой радиочувствительностью стволовых клеток, количество которых и их пролиферативная способность сильно подавляются при воздействии.

Пул делящихся-созревающих клеток, несмотря на то, что они менее чувствительны, также снижается как в результате прямой гибели, так и в силу

снижения интенсивности митоза, а также за счет сократившегося поступления предшественников из стволовых клеток.

Созревающие и функционально зрелые клетки относительно резистентны, продолжают выполнять свои функции в течение некоторого времени. Однако истощение элементов крови через несколько дней ведет к вторичным последствиям (анемия, инфекции, кровоточивость, снижение уровня фибриногена и др.).

Желудочно-кишечный синдром связан с истощением эпителия тонкого кишечника. В системе «крипта-ворсинка» клетки ворсинок более резистентны, однако имеют малый период функционирования (у человека порядка 10 суток, у крысы – 2 суток). Задержка митоза в криптах намного продолжительнее, чем в костном мозге. Следствием поражения кишечного эпителия является нарушение баланса жидкостей и электролитов в организме, расстройство питания, инфекции. Еще одним синдромом лучевого поражения выступает нарушение системы сперматогенеза и эстрального цикла, также характеризуемых высокими темпами пролиферации.

Подобное явление, подавление ионизирующей радиацией активно делящихся клеток широко используется в радиотерапии онкологических заболеваний.

1.3.3. ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ

Особью можно считать организм, происходящий из одной зиготы (гаметы) и индивидуально подлежащий действию элементарных эволюционных факторов.

Онтогенез – это процесс реализации генетической информации, закодированной в структурах зародышевой клетки. В процессе онтогенеза в должном месте, в должное время появляется должная структура, начинают осуществляться необходимые биохимические реакции или физиологические процессы (онтогенетическая дифференцировка). Подобная реализация наследственной информации происходит на фоне постоянного изменения внешней среды. Эволюционно сложилось так, что развитие особи происходит нормально только в некотором диапазоне всех внешних условий – как физико-химических, так и биологических (диапазон толерантности). Возникающий в процессе онтогенеза фенотип всегда в каких-то деталях отличается от всех остальных фенотипов, даже близкородственных. Эти отличия являются основой для действия естественного отбора, который в обычных условиях определяет возможность сохранения и размножения тех особей, которые в чем-то более соответствуют оперативным условиям среды.

Вторжение человека в биосферу сопровождается появлением многих факторов, часто эволюционно новых, которые выходят за рамки диапазона толерантности.

На уровне организма речь идет о следующих проявлениях токсичности среды.

А. *Влияние на анатомо-морфологическую структуру растений.*

- Изменение окраски, проявляемой через бледную, желтую или бурую окраску листовых пластинок (хлороз).

- Отмирание ограниченных участков (некрозы). Возможны точечные (пятнистые), межжилковые, краевые и другие некрозы.
- Дефолиация (опадение листвы). Наиболее часто отмечают уменьшение продолжительности жизни хвои, сокращение ассимилирующей площади, сокращение прироста, преждевременное образование побегов.
- Изменение размеров органов, их формы, количества и положения. Отмечают искривление побегов, их перетяжку, вздувание, образование наростов (капов). Под влиянием радиации в Чернобыле, например, появились «ведьмины метлы», представляющие пучок укороченных бурно ветвящихся побегов, обильно усыпанных шишками, главным образом женскими. Важно, что 50% семян из «ведьминых метел» дают снова «ведьмины метлы», и только остальные – нормальные семена.
- Снижение продуктивности (прироста), главным образом радиального.

При диагностике морфологических изменений необходимо отделять повреждения, вызванные действием «традиционных», погодно-климатических факторов, изменение состава почв или влияние вредителей. Например, дефолиация может быть вызвана изменением почвенных условий (смена водного режима почвы) или появлением вредителей (тополиная моль).

Б. *Нарушение процессов размножения*.

- У растений отмечено изменение плодовитости, иногда замена семенного воспроизводства на вегетативный путь размножения.
- У животных имеет место гонадотоксический эффект, обуславливающий не только морфологические, но и функциональные нарушения половых желез. Исчезает способность давать потомство из-за нарушения сперматогенеза, гибели сперматозоидов, нарушения эстрального цикла, эмбриогенеза. Например, пестицид *цирам* подавляет не только грибковые заболевания растений, но и снижает подвижность сперматозоидов у животных, удлиняет сроки беременности. Другой фунгицид – *гранозан* – нарушает созревание фолликул. Инсектицид *севин* также способен накапливаться в репродуктивных тканях млекопитающих, что ведет к снижению интенсивности их размножения.

При попадании даже следов нефти в пищу уток (кряквы) отмечена задержка начала кладки, снижение числа яиц и вылупляемости птенцов.

В результате накопления в телах лягушек тяжелых металлов наблюдали асинхронность в развитии их гонад, в результате не одновременного созревания самцов и самок снижалась успешность их размножения.

- Эмбриотоксический эффект характеризуется влиянием на процессы развития плода, вплоть до мертворождения.
- Тератогенный эффект сопровождает появление врожденных дефектов у новорожденных, благодаря тому, что увеличивается транзит токсиканта через плаценту. Особо отметим возможность проявления тератогенного эффекта при отсутствии токсических проявлений у матерей (болезнь Минамато).

В качестве последствий загрязнения природной среды многие авторы показали истончение скорлупы яиц у хищных птиц, что ведет к снижению их прочности и повышенной гибели в гнезде. У орланов в районе Ботнического залива Австралии отмечено снижение толщины скорлупы на 20%. Это ведет к

эмбриотоксическому и тератогенному эффектам в силу повышенной проницаемости скорлупы для токсикантов, особенно пестицидов.

Показано влияние ПХБ и тяжелых металлов на качество спермы у человека: нарушение подвижности и концентрации сперматозоидов, появление их патологических форм. Датские ученые при анализе данных 21 страны Европы и Америки установили снижение численности сперматозоидов у человека. По данным ВОЗ, причины врожденных аномалий у человека на 25% генетически обусловлены, из них 5–6% за счет экстремальных факторов среды.

Следует отметить и возможный обратный эффект. Показано, что применение хлорофоса увеличивало яйцепродуктивность колорадского жука.

В. *Нарушение поведения животных*.

Влияние токсикантов может отразиться на поведении животных. Отмечено, что полевки, затравленные дильдрином вели себя иначе, чем интактные зверьки. Реже останавливались на «угрозу» в условиях эксперимента в «открытом поле». Подобная неадекватность в поведении зверьков неизбежно ведет к их повышенной элиминации из популяций.

В тех случаях, когда речь идет об альтернативных эффектах (гибель организма), часто используют термин резистентности организма к действию токсических факторов среды. Под резистентностью понимается способность организмов выжить ограниченное время в летальных условиях. Изучение резистентности организмов в условиях токсического загрязнения среды является одним из методов оценки состояния природных популяций. Однако не всегда учитывается, что в зависимости от интенсивности воздействия (дозы, скорости ее изменения), выводы о сравнительной резистентности могут быть различными. Организмы, более устойчивые к острым летальным или сублетальным воздействиям, могут оказаться менее резистентными к хроническим летальным нагрузкам и наоборот. При определении причин неоднозначности резистентности в первую очередь следует обратить внимание на характеристики, которые затрагивают весь организм. Особое место занимает обмен веществ, поскольку он является основой всех жизненных процессов – дает необходимую энергию и материал для функционирования клеток, тканей, организма.

Можно говорить о двух способах защиты организма от внешнего воздействия: активного и пассивного.

Активная защита совершается с помощью адаптивных механизмов, осуществляющих компенсацию функций, репарацию повреждений и восстанавливающих гомеостаз. Для этого необходимо время и требуется метаболическая работа в течение и после воздействия. Эффективность и скорость адаптивных процессов тем выше, чем выше интенсивность метаболизма.

Пассивная защита заключается в ограничении реакции организма на экстремальные воздействия, в уменьшении скорости возникновения и развития повреждения. Такая защита требует временных затрат и метаболической работы пока продолжается воздействие. Чем ниже скорость метаболизма, тем позже возникают и медленнее распространяются повреждения, поскольку повреждения развиваются на основе существующего обмена веществ. Пассивная защита связана не только с интенсивностью метаболизма, но и с наличием

защитных покровов, панцирей и прочего, а также с другими особенностями организма, не требующими метаболических затрат во время воздействия.

Таким образом, процессы поражения неоднозначно зависят от интенсивности метаболизма. При его высоком уровне выше эффективность адаптационных процессов, но быстрее развиваются повреждения. При низком уровне метаболизма повреждения развиваются медленнее, но и медленнее осуществляется адаптационная реакция.

Однако результат токсического воздействия зависит не только от состояния организма, но и от интенсивности действующего фактора. Если интенсивность повреждающего фактора велика (острое воздействие), то эффективность адаптационных реакций (восстановление, репарация), ввиду недостатка времени, мала. В этих условиях высокая интенсивность обмена и соответственно повышенные адаптационные возможности не дают организмам преимущества. Более того, у них быстрее возникают и распространяются повреждения структур и функций. При острых нагрузках более резистентными окажутся организмы с низкой скоростью метаболизма, продолжительность жизни в летальных условиях у них будет дольше за счет более эффективной пассивной защиты.

Иначе обстоит дело при хронических летальных воздействиях. Адаптационные процессы за несколько суток успеют развиться в большей степени, чем при острых нагрузках, и смогут оказать положительное влияние на продолжительность жизни. Пассивная защита при этом будет относительно менее эффективна, поскольку процессы повреждения в результате хронических нагрузок протекают медленнее, чем при острых, по причине замедленного характера воздействия. В этих условиях преимущество будет уже на стороне организмов с высоким уровнем обмена веществ, т.к. у них выше эффективность адаптационных процессов.

Неоднозначный характер резистентности может быть объяснен тем, что при острых летальных воздействиях более резистентными оказываются организмы с низким уровнем метаболизма, а при хронических – организмы с высокой скоростью обмена веществ. Это значит, что при действии токсического фактора одной и той же интенсивности организмы различных видов или находящиеся на разных стадиях развития могут иметь различные токсические проявления. Это относится к системам пассивной защиты.

Можно говорить, что у организмов, проявляющих повышенную резистентность к острым нагрузкам, следует ожидать пониженную интенсивность метаболизма или сильнее выраженные иные средства пассивной защиты. В свою очередь, у организмов, более резистентных к хроническим воздействиям, реальная или потенциальная (в экстремальных условиях) скорость обмена должна быть выше.

Молодые организмы, по сравнению со взрослыми, устойчивее к хроническим нагрузкам, но при острых воздействиях они демонстрируют низкую резистентность.

Предварительная обработка форели кадмием, тренировка лосося и гольца различными воздействиями (даже не связанными с токсичностью!) стимулировали у рыб интенсивность обмена веществ. Это проявлялось в ускорении синтеза белков, в увеличении относительной массы сердца и жабер, в интен-

сификации пищевой активности, в ускорении развития. Одновременно с повышением интенсивности метаболизма у рыб наблюдали увеличение устойчивости к хроническим нагрузкам и снижение к острым.

Неоднозначный характер резистентности можно объяснить тем, что организмы с высокой интенсивностью метаболизма оказываются более устойчивыми к хроническим нагрузкам (активная защита), а организмы с низкой скоростью обмена веществ – более резистентными к острым воздействиям (пассивная защита). Если необходимо выяснить только апдаптационные возможности (активная защита), то следует использовать хронические воздействия. При изучении пассивной защиты (не требующей метаболических затрат во время воздействия) используются острые влияния.

В реальных условиях загрязнения видовые различия в толерантности организмов могут зависеть от степени их контакта с токсикантом. В почвенных условиях малоустойчивые органические токсиканты не могут считаться опасными для тех почвенных обитателей, чья продолжительность жизненного цикла достаточно велика по сравнению со временем распада токсиканта. С другой стороны, короткоцикловые животные часто устойчивы к долгоживущим поллютантам (например, к радионуклидам), т.к. полученные ими дозы за период «от яйца до яйца» невелики, чтобы вызвать определенные нарушения в популяциях, что показано на энхитреидах с разной продолжительностью жизни.

* * *

Рассмотренные выше токсические эффекты молекулярно-генетического, клеточно-тканевого и онтогенетического уровней, вызванных токсическим загрязнением природной среды в рамках экологической токсикологии следует рассматривать, прежде всего, в качестве биоиндикационных показателей состояния соответствующих уровней биологических систем. Поскольку экотоксикология понимается нами в качестве науки экологической, то перечисленные выше показатели должны рассматриваться как показатели первичных токсических эффектов, имеющих следствием реакции систем надорганизменного (популяционного, биогеоценотического) уровня.

1.4. БИОТРАНСФОРМАЦИЯ И БИОДЕГРАДАЦИЯ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

В живых организмах могут протекать реакции, направленные на разложение и биотрансформацию токсических веществ с образованием продуктов таких реакций, не обладающих токсичностью. В этом случае речь идет о механизмах **детоксикации** вредних веществ в живых организмах.

У ***растительных*** организмов основной путь детоксикации связан с фиксацией чужеродных соединений неактивными молекулами клеточных стенок. При этом часто токсиканты сохраняют токсичность, и при поступлении обработанных химическими веществами (чаще всего пестицидами!) кормов в ЖКТ животных происходит их высвобождение.

Рис. 1.4. Эволюция механизмов биотрансформации чужеродных веществ в организмах животных (Остроумов, 1986)

Например, листья кукурузы, обработанные рядом пестицидов (атразин, цианозин) при скармливании скоту могут вызвать мутагенный эффект.

У ***животных*** отмечен более широкий спектр реакций на чужеродные вещества. Преимущественно реакции детоксикации направлены на увеличение водорастворимости исходных веществ или их метаболитов с последующим выведением из организма. Это увеличение водорастворимости достигается введением в состав молекул гидроксильных групп (гидроксилирование) или групп, способных диссоциировать с образованием ионов. Например, конъюгация с водорастворимыми биомолекулами. Из широкого спектра таких химических реакций, возможных в условиях внутренней среды живых организмов, можно выделить:

- окисление (**О**);
- восстановление (**В**);
- гидролиз (**Г**);
- ацетилирование (**Ц**).
- Реакции конъюгации (химической связи): с аминокислотами (**М**), с сульфатами (**С***)*, с глютатионом (**Т**), с глюкурановой кислотой (**У**), с глюкозой (**Ю**) (рис. 1.4).

Приведенная схема показывает, что наряду с имеющими место у всех групп животных процессами гидролиза, восстановления, конъюгации с аминокислотами по мере эволюционной продвинутости видов появляются качественно новые реакции, и возрастает общее количество реакций, участвующих в процессе биодеградации. Появляются процессы окисления, конъюгации с сульфатами, с глюкурановой кислотой, глюкозой.

У млекопитающих следует отметить еще один механизм детоксикации. В ответ на повышенное поступление в организмы металлов индуцируется син-

тез особых белков – металлотионинов, обладающих высокой специфичностью к металлам, которые связываются молекулой белка, что приводит к детоксикации с последующим депонированием их в печени, почках (Cd, Cu, Zn), селезенке (Cd) и выведением из организма.

Подобно мутагенным эффектам попадание в окружающую среду эволюционно новых химических соединений породило новую проблему – токсификацию. В результате **токсификации** деградация первичных токсикантов сопровождается появлением более токсичных метаболитов, обладающих свойствами мутагенности, канцерогенности, тератогенности.

Так, в результате токсификации полициклические ароматические углеводороды распадаются с образованием соединений, являющихся интермедиатами в канцерогенезе. Отметим, что канцерогенность ПАУ впервые была установлена еще в XVIII веке в результате диагностики раковых заболеваний мошонки у трубочистов.

Следует подчеркнуть особую роль микроорганизмов, населяющих ЖКТ млекопитающих. Так, у жвачных животных биодеградация большинства пестицидов происходит за счет микроорганизмов рубца. При поступлении же с водой они транзитом, минуя рубец, активно переходят в сычуг, а далее в кишечнике всасываются в кровь.

Процессы биодеградации, сопровождаемые токсификацией, часто обладают видовой специфичностью, что используется при борьбе с насекомыми. Сегодня создаются вещества, обладающие пониженной токсичностью для млекопитающих и высоко активных для насекомых (дельтанит, тиодекарбонит). Например, у теплокровных животных разложение пестицидов за счет ферментативных реакций с участием оксидаз сопровождается образованием малотоксичных и водорастворимых сульфамидов. У насекомых – другой путь биотрансформации тех же пестицидов. Происходит гидролиз поллютантов с образованием карбаминовых кислот – особо активных и токсичных соединений.

Другим примером может быть широко известный хлорофос, применяемый для борьбы с насекомыми. Механизм его действия заключается не только в прямом токсическом действии, но и за счет дегидрохлорирования в организме насекомых образуется дихлофос, обладающий в 10–15 раз более высокой токсичностью. Отметим также, что реакция образования дихлофоса может происходить при нагревании исходного соединения. Так, при обработке животных хлорофосом в молоке обнаруживают содержание дихлофоса.

У растений тоже возможны процессы токсификации, сопровождающиеся появлением высокоактивных метаболитов. До последнего времени широко использовался при опрыскивании яблонь пестицид *алар*. При последующей термической обработке яблок это вещество переходит в *гептил*, ядовитое вещество в 6 раз более токсичное, чем синильная кислота. С 1986 года применение этого препарата в Европе и США запрещено.

Следует отметить, что биотрансформация активно протекает и в биокосных системах. В почвах и природных водоемах эти процессы идут за счет экзоферментов и метаболитов, вырабатываемых прокариотами, грибами и водорослями.

В **почвах** определенная часть загрязняющих веществ сорбируется почвенными структурами и оказывается вне сферы воздействия таких экзоферментов. Доступными для процесса деградации являются главным образом токсиканты в жидкой фазе почвы. Эти процессы наиболее активны в том случае, если токсичностью не подавлена жизнедеятельность почвенных организмов. Эффективность биодеградации определяется рядом факторов: механическими свойствами почв, содержанием в них гумуса (увеличение гумуса ведет к повышенной сорбции нелетучих веществ, в том числе металлов), степени аэрации почв, уровня pH и других.

В **природных водоемах** процессы биодеградации связаны не только с экзоферментами, но и со свободными радикалами, образуемыми в воде благодаря наличию перекиси водорода и антиоксидантов (восстановителей), выделяемых гидробионтами. Интенсивность этих процессов зависит от условий водоема (солености, наличия тяжелых металлов, pH водоема и прочих).

При этом в водоемах и почвах также могут иметь место процессы токсификации. Например, ртуть, поступающая в окружающую среду в виде неорганических соединений, в результате процессов метилирования образует высокотоксичную метил-ртуть или диметил-ртуть, обладающую высокой подвижностью и токсичностью. В этой связи следует особо отметить роль pH водоемов, при понижении которого может происходить высвобождение ранее связанных металлов до свободной, обладающей повышенной токсичностью ионной формы. Это касается, прежде всего, алюминия, который в ионной форме обладает высокой токсичностью для гидробионтов.

Глава 2

ПОПУЛЯЦИОННЫЕ И БИОГЕОЦЕНОТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ

Сравнительно новое научное направление – экологическая токсикология формируется на стыке ряда направлений: теоретической и прикладной экологии, медицинской токсикологии и гигиены. Это своеобразие экотоксикологии определяет, с одной стороны, необходимость изучения особенностей метаболизма и накопления токсических веществ живыми организмами, их биотрансформацию в природной среде, а также изучение элементарных эффектов поражения. С другой стороны, центральной является проблема функционирования в этих условиях систем популяционного и биоценотического ранга.

Отметим, что часто экологическую токсикологию сводят к изучению содержания токсических веществ в объектах природной среды и их потоков. Сегодня подобных данных накоплено достаточно для различных уровней организации систем, однако этого недостаточно. В конечном счете, важна оценка значимости этих показателей для судьбы природных экосистем.

Следует признать существенные трудности при решении этой задачи, связанные с неспецифичностью реакции природных систем на влияние токсического стресса. Экологические системы и их отдельные звенья эволюционно не готовы к повышенным уровням токсического загрязнения среды. Однотипность их реакции на влияние природно-климатических факторов и токсикантов создает трудности однозначной диагностики последствий загрязнения среды. В этом случае параллельное использование аналитических методов контроля содержания химических веществ в объектах окружающей среды может лишь облегчить задачу диагностики эффектов, вызванных загрязнением. Решающим является оценка состояния природных систем и прогноз ожидаемых изменений.

Следует отметить, что анализ подобных стрессовых состояний природных популяций и биогеоценозов выходит на фундаментальные экологические проблемы функционирования и стабильности биологических систем надорганизменного уровня.

Ранее были рассмотрены экотоксикологические эффекты молекулярно–генетического, клеточно-тканевого и онтогенетического уровней. В настоящем материале сделана попытка обобщения некоторых данных, характеризующих реакцию на загрязнение среды систем следующих уровней организации. Мы старались обратить основное внимание на ключевые параметры, определяющие жизнеспособность и стабильность функционирования природных популяций и биогеоценозов в условиях химического стресса.

2.1. ЗАВИСИМОСТЬ «ДОЗА – ЭФФЕКТ» В ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

Экологическая токсикология относится к классу токсикологических наук, в центре которых находится изучение механизмов токсического действия веществ жизненно необходимых (эндогенных), но поступающих в организмы в избыточном количестве, или полностью чужеродных (ксенобиотики, поллютанты). Однотипность первичных механизмов токсического действия и в ряде случаев близость изучаемых объектов различных направлений медицинской токсикологии и экотоксикологии предопределяет близость методических подходов этих наук. Необходимо знать, как влияет увеличение токсической нагрузки на выраженность токсического эффекта. С этой целью оперируют зависимостью *«доза – эффект»*. При этом возможны два подхода для выражения упомянутой зависимости:

1. *Градированный* вид зависимости в количественной форме отражает изменение того или иного показателя состояния системы как функции внешнего воздействия. По мере увеличения токсической нагрузки постепенно возрастают проявления токсичности. Однако сами по себе градированные показатели еще не определяют однозначно статус организма, т.е. не позволяют сделать заключение о наличии или отсутствии поражения. Видимо, необходим некоторый предел действующего токсического фактора, превышение которого однозначно (альтернативно) означало бы наличие поражения (рис. 2.1, А).

2. Переход к *альтернативному* выражению эффекта поражения предполагает известным некоторый критерий вредности градированного показателя, т.е. по существу подразумевает диагностику состояния *«норма – патология»*. Альтернативная зависимость основывается на концепции пороговости поражающего действия. При этом речь идет о резком переходе количественных изменений к новому качественному состоянию (рис. 2.1, Б). Каждый такой переход соответствует переходу с одного уровня организации биологических систем на более высокий. Дозовые зависимости следует рассматривать в соответствии с уровнями организации биологических систем.

Рис. 2.1. Градированный (А) и альтернативный (Б) характер зависимости

Рассмотрим упрощенную ситуацию. Предположим, что речь идет о концентрации какого-либо токсиканта в крови. Обозначим ее как уровень токсического фактора (рис. 2.2). При превышении определенной критической концентрации $C_{кр.1}$ будут отмечены признаки поражения системы молекулярного уровня (например, снижение активности какого–либо фермента, рис. 2.2, А). При этом орган или ткань продолжают нормально функционировать до достижения следующего критического значения концентрации $C_{кр.2}$, при превышении которого будут отмечены признаки поражения функции этого органа или ткани (рис. 2.2, Б). Например, это может быть поражение почек или иного органа. Дальнейшее увеличение концентрации в крови может привести к гибели особи. Естественно, что сразу погибнут не все особи, наиболее резистентные из них выживут, но численность популяции будет снижаться по мере увеличения концентрации токсиканта в крови животных. При этом критическое значение $C_{кр.3}$ будет означать начало снижения численности такой популяции (популяционный уровень эффектов, рис. 2.2, В). Аналогичным образом уменьшение количества популяций в сообществе будет определяться при превышении уровня токсиканта в крови выше $C_{кр.4}$ (рис. 2.2, Г).

На основании подобного анализа упрощенной схемы можно сделать следующие выводы:

1. Каждому уровню организации систем присущи особые виды взаимодействия между специфическими для данного уровня структурами (например, активность ферментов, функционирование органа, смертность организма, численность популяции и т.д.). С переходом к вышележащим уровням механизмы взаимодействия, свойственные нижележащим, могут сохранять свое функциональное значение, но ведущую роль приобретают новые типы взаимодействия, по отношению к которым первые находятся в подчиненном состоянии.

2. Критические значения токсического фактора $C_{кр}$, отражающие переход к альтернативным факторам, смещаются в сторону больших значений токсического фактора по мере перехода от низших уровней организации к высшим.

3. Диапазон проявления токсичности от первичных признаков до полного поражения объекта сужается по мере перехода к биологическим системам надорганизменного уровня. Это значит, что для таких систем даже малые изменения действующего фактора в этом диапазоне могут привести к полному поражению.

4. Все альтернативные эффекты по своей природе являются пороговыми. Все градированные зависимости беспороговы.

5. Пороговый характер альтернативных эффектов основывается на беспороговости предшествующих градированных показателей. В равной мере в беспороговости градированных показателей присутствует альтернативность эффектов на предшествующем уровне организации.

Следует отметить, что приведенные рассуждения и выводы относятся к крайне упрощенной ситуации, когда рассмотрена реакция лишь отдельной системы. В реальности ответ организма многовариантен, и критические значения действующего фактора для различных систем могут значительно различаться. Реакция систем разного уровня в этом случае не будет столь четко выражена.

Рис. 2.2. Зависимость «доза – эффект» для нескольких уровней организации биологических систем ($C_{кр1}$, $C_{кр2}$, $C_{кр3}$, $C_{кр4}$ – критические уровни токсиканта)

В равной мере это относится и к биоценотическому уровню, для которого диапазон проявления токсичности будет значительно шире, поскольку элиминация из сообщества популяций одного вида организмов (популяционный уровень эффектов) не ведет к поражению цельного биоценоза в силу возможной замены популяциями других, более резистентных видов.

Вводимое значение критического уровня $C_{кр}$, однозначно определяющее наличие поражения или его отсутствие, представляется столь же неопределенным.

Чаще всего используют статистический подход, в основе которого лежит 95% (99%)-ная степень достоверности. Это означает, что при данном уровне токсического фактора признаки поражения могут наблюдаться соответственно у заранее обоснованного 5% или 1% числа случаев.

Рассматриваемые нами в качестве дозы концентрации токсикантов в крови или в цельном организме не могут характеризоваться некоторыми средними значениями. Эта мера должна отражать разнородность организмов в популяции, основанную на своеобразии обменных процессов, различии пищевых рационов, специфичности пространственных перемещений по загрязненной территории и прочих факторах. Все это обуславливает разнокачественность особей в популяции по накапливаемым ими уровням токсикантов.

Таким образом, в экологической токсикологии в качестве аргумента в зависимости «доза – эффект» следует рассматривать спектр концентраций токсических веществ в популяционной выборке, описываемый одним из законов статистического распределения.

Популяционный ответ на подобное воздействие должен учитывать то, что в популяции существуют различные организмы, способные накапливать разное количество токсикантов и по-разному реагирующие на такое токсическое воздействие. В силу этого в качестве признаков поражения следует рассматривать такие, которые прямо влияют на способность популяции поддерживать свою численность (количество «пораженных» особей, продолжительность их жизни, возможность оставить полноценное потомство).

В основе современных экотоксикологических подходов к оценке вредных уровней лежит принцип пороговости действия фактора. Реализация этого принципа позволяет перейти от диагностики состояния организма (выраженного в альтернативной форме наличия или отсутствия поражения) к популяционному эффекту через долю особей в популяции, содержание токсических элементов в организмах которых превышает некоторое критическое значение $C_{кр}$ (рис. 2.3).

Подобная оценка токсического эффекта носит популяционный характер, поскольку (при наличии соответствия между содержанием токсических веществ в организме и его состоянием) она связана с отмеченной выше структурированностью природных популяций по уровню токсикантов, содержащихся в отдельных субпопуляционных группировках. Любые изменения уровней загрязненности во внешней среде, так же как изменение половой, возрастной и пространственной структуры популяции, приводят к изменению в ней количества особей с повышенным содержанием токсикантов (доли «пораженных» особей).

Все изложенные положения иллюстрируются рис. 2.3, на котором схематично представлены распределения концентраций токсических элементов в организмах, составляющих популяцию, при возрастающем загрязнении природной среды. Можно условно предполагать, что в популяции часть особей накапливает большее количество токсикантов (в нашем примере это могут быть половозрелые животные), остальные (неполовозрелые) – тех же токсикантов содержат меньше. Наличие критического уровня $C_{кр}$ позволяет оценить долю «пораженных» зверьков среди половозрелых и неполовозрелых, отражая тем самым неравномерность токсической нагрузки на эти группы животных.

Рис. 2.3. Содержание токсических элементов в природных популяциях животных в зависимости от интенсивности химического загрязнения среды. $C_{кр.}$ – критический уровень токсикантов в организмах половозрелых и неполовозрелых животных. Заштрихованная площадь соответствует количеству «пораженных» особей

К сожалению, получение прямых данных, позволяющих оценить критические уровни токсикантов в природных экосистемах, затруднено. В современных условиях глобального загрязнения внешней среды диагностировать наличие неспецифических признаков поражения даже для значительных выборок практически невозможно. Видимо, единственным путем решения этой проблемы является постановка соответствующих токсикологических экспериментов в вивариях, климатических камерах, мезокосмах со строгим дозированием уровня и длительности воздействия. Однако при этом возникает другая трудность, связанная с последующей необходимостью экстраполяции полученных в эксперименте данных, прежде всего критических значений, на условия существования природных популяций. Возникают проблемы адекватного учета особенностей обмена токсикантов в природных средах, оценка их количеств, поступающих в животные и растительные организмы, и, наконец, прогнозируемой реакции популяции на изъятие части «пораженных» особей. Все эти проблемы относятся к фундаментальным закономерностям экологической науки.

2.2. ПОПУЛЯЦИОННЫЙ УРОВЕНЬ ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ

2.2.1. РОЛЬ ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ И ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ В УСЛОВИЯХ ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

Одним из важнейших проявлений адаптационных процессов является направленное изменение эколого-генетической структуры популяции, позволяющее ей выполнять свои биогеоценотические функции в изменившихся условиях среды. Такая модификация структуры возникает в результате взаимодействия токсического фактора и исходного полиморфизма природных популяций.

В качестве примера приведем данные By et al. (1968), изучавших луговые сообщества полевицы (*Agrostic stolonifera*), расположенные вблизи медеплавильного завода. В качестве меры токсического проявления был использован так называемый тест корневых систем. Индекс толерантности растений определяли как отношение средней длины корней растений, культивируемых в питательном растворе с добавлением определенных количеств меди, к таковому же показателю у растений, развивающихся в аналогичных условиях, но без добавок металла. Подобным методом были изучены растения, отобранные на лугах различного возраста. Почвы около завода были загрязнены медью настолько, что молодая трава, посеянная пятью годами ранее, не покрывала полностью поверхность земли. В то же время старые луга, возрастом до 70 лет, имели хорошо развитый покров с большим преобладанием полевицы над другими видами. Установлено, что растения из незагрязненных ценопопуляций были практически не толерантны к меди. Показано, что с течением времени возрастает доля растений, обладающих повышенным индексом толерантности к меди. Если на незагрязненных участках растения с таким индексом, большим 25%, полностью отсутствуют, то по мере старения луга все больше и больше растений обладают повышенной резистентностью, и к 70 годам половина растений характеризуется индексом толерантности выше 50%. Средний индекс к 70 годам достигает 50–60% по сравнению с 25% при возрасте лугов 4 года и 4–6% на незагрязненных территориях. По мнению авторов, в основе подобной адаптации лежит исходная разнокачественность ценопопуляций полевицы.

Тот же корневой тест был использован для расчета индекса толерантности взрослых растений другого вида полевицы (*Agrostic tenuis*), произрастающих на различном расстоянии от источника загрязнения, и толерантности семян тех же растений, определяемых по устойчивости к меди выросших из них взрослых особей (McYeilly, 1968). На удалении, где загрязнение почвы медью проявляется слабо, семена растений характеризуются большей устойчивостью к этому металлу, чем родительские особи. (Речь идет о взрослых растениях, выросших из семян.) Незагрязненные участки отражают исходный полиморфизм растений, в том числе и толерантных к действию конкретного токсического фактора, генерируемых взрослыми растениями. При отсутствии токси-

ческого влияния или его слабой выраженности формы толерантные к меди, не проявляются в полной мере, обладая, по-видимому, меньшей приспособленностью к остальным природным условиям. Именно поэтому индекс толерантности взрослых растений по отношению к меди ниже, чем у растений, выросших из их семян.

По мере приближения к заводу все большую роль в отборе играет токсический фактор. Устойчивые к нему формы, обладая этим преимуществом, в большей мере закрепляются, повышая общий уровень толерантности взрослых растений. На некоторых расстояниях в ценопопуляциях полевицы этот индекс взрослых особей начинает превышать показатель для растений, выросших из семян родительских особей. Дальнейшее повышение загрязненности почв ведет к резкому возрастанию средней толерантности.

Интересны данные об эволюционно обусловленной резистентности планктонных ракообразных к химическому стрессу. Согласно гипотезе о разных сроках вселения гидробионтов в пресные воды, все виды делятся:

– на *палеолимнические* (давно вселившиеся);
– *мезалимнические* (вселившиеся в более поздние сроки);
– *неолимнические* (вселившиеся недавно).

По мере освоения пресных вод виды заселяли сначала глубоководные озера с относительно постоянным газовым, солевым и температурным режимом. Далее – небольшие озера и в последнюю очередь пересыхающие мелкие водоемы. При этом у пресноводных видов вырабатывались более глубокие адаптации к действию неблагоприятных факторов, характерных для временных водоемов (пересыхание, промерзание и т.д.). Наибольшая степень адаптации характерна для палеолимнических форм, способных выжить даже в пересыхающих водоемах. Напротив, мезо- и неолимнические виды, не имеющие всего комплекса приспособлений и обитающие только в постоянных водоемах, оказываются наиболее уязвимыми.

Таким образом, адаптацию к обезвоживанию, нестабильности температурного и солевого режимов, наличию таких вредных газов, как сероводород, углекислый газ можно рассматривать как преадаптацию к антропогенному фактору.

В основе отмеченных фактов адаптации лежит исходная гетерогенность природных популяций, которая позволяет им за счет адекватного изменения эколого-генетической и пространственной структуры компенсировать неблагоприятное влияние химического загрязнения сред.

2.2.2. ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИОННЫХ ПАРАМЕТРОВ В КАЧЕСТВЕ ОСНОВЫ ПОПУЛЯЦИОННОЙ АДАПТАЦИИ К ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ

Речь идет о повышенной изменчивости некоторых показателей, возникающей под влиянием химического загрязнения. Изменчивость морфофизиологических параметров организмов, составляющих природные популяции, является важнейшей характеристикой, поскольку определяет их способность

адаптироваться к условиям среды, в том числе в случае химического загрязнения последней.

Особенностью популяционной зависимости «доза – эффект» является связь вариабельности подверженных токсическому влиянию популяционных параметров с уровнем загрязнения среды обитания. В градиенте токсической нагрузки можно выделить три диапазона. На начальном уровне дозовой зависимости, пока отсутствуют выраженные токсические проявления, вариабельность популяционных параметров остается на уровне фоновой, отражающей приспособленность популяции к условиям нормального функционирования. В диапазоне высоких доз, при которых активно реализуется элиминация пораженных организмов, вариабельность параметров должна снижаться.

Промежуточный диапазон доз характеризуется повышенным уровнем изменчивости токсических эффектов. Из рис. 2.4, А видно, что при этих дозах реакция популяционной системы, условно представленной тремя различными по чувствительности группами организмов, должна иметь максимальную вариабельность. Даже такое чисто качественное рассмотрение позволяет сделать вывод об увеличении дисперсии $\boldsymbol{s}^2$, связанной с ростом токсической нагрузки и обусловленной дифференциальной чувствительностью субпопуляционных группировок. Следует ли рассматривать подобное, вызванное токсическим влиянием изменение вариабельности в качестве проявления адаптации?

На фоновых участках при отсутствии или минимальном токсическом воздействии средние популяционные показатели и их естественная изменчивость, в том числе показателей воспроизводства, закреплены в результате длительного эволюционного развития. Это обеспечивает стабильность существования популяции, гарантирующую адекватную ее реакцию на колебания условий естественной среды. Чаще всего вариабельность популяционных параметров соответствует нормальному закону распределения. Рассматриваемое нами химическое загрязнение среды выступает в качестве дополнительного, постоянно действующего фактора. В то же время на загрязненных территориях не исключено влияние «традиционных» природных факторов, постоянно влияющих на состав адаптированных к химическому стрессу популяций. Можно считать, что при токсическом загрязнении среды результирующая вариабельность популяционных параметров состоит из дисперсии, связанной с влиянием токсического фактора $\boldsymbol{s}_T^2(P)$ на гетерогенную по толерантности популяционную систему, и дисперсии, обусловленной вариабельностью условий внешней среды $\boldsymbol{s}^2_{\text{ср}}$

$$\boldsymbol{S}_{\Sigma^2} = \boldsymbol{s}_{T^2}(P) + \boldsymbol{s}^2_{\text{ср}}. \tag{2.1}$$

Можно показать, что $\boldsymbol{s}_T^2(P)$ не монотонно зависит от уровня токсической нагрузки P. Дисперсия условий среды $\boldsymbol{s}^2_{\text{ср}}$ при отсутствии токсического влияния остается постоянной. Отмеченное справедливо, если речь идет о прямом токсическом влиянии на организмы. В реальных условиях при достаточно высоких токсических нагрузках имеет место деградация

природных экосистем и прежде всего фитоценозов. Этим обусловлен более широкий диапазон колебаний обычных природных условий обитания животных и растительных организмов. Вызванная химической деградацией среды изменчивость возрастает в градиенте токсического фактора, поэтому дисперсия, связанная со средой, также должна зависеть от уровня токсической нагрузки $s^2_{ср} = s^2_{ср}(P)$. На рис. 2.4, Б схематично представлены эти компоненты и общая дисперсия токсического эффекта как функция величины токсической нагрузки.

Рис. 2.4. Зависимость показателей жизнеспособности (А) и их дисперсий (Б) от уровня токсической нагрузки: 1 – дисперсия признака при фоновых условиях; 2 – дисперсия, обусловленная химической деградацией среды; 3 – дисперсия, вызванная прямым токсическим влиянием; 4 – результирующая дисперсия

Адаптивный ответ на такое совместное действие требует сохранности в популяционной структуре как особей, приспособленных к условиям обычной среды (не загрязненной), так и возросшей доли организмов, обладающих повышенной резистентностью по отношению к конкретному токсическому фактору. Необходимость выполнения этих условий неизбежно приводит к возрастанию изменчивости важнейших параметров, определяющих жизнедеятельность популяции. Подобное увеличение вариабельности может происходить

как при снижении средних популяционных показателей, так и при их возрастании. Таким образом, необходимость сохранения жизнеспособности в любых условиях «вынуждает» популяцию и в случае влияния дополнительных экстремальных факторов (токсическое воздействие), приводящих к изменению средних показателей, сохранять в своем составе особи, соответствующие требованиям «нормальной» среды, искажая тем самым нормальное статистическое распределение значений параметров. Можно считать, что адаптированная к токсическому влиянию популяция сохраняет тем большую способность адекватно реагировать на изменение «традиционных» природных условий, чем значительнее перекрываются вариационные кривые параметров, характеризующих фоновую и подверженную загрязнению популяции. При этом необходимо учесть, что наиболее ценными для жизнеспособности адаптированной к токсическому стрессу популяции будут те особи, которые максимально близки к модальному классу вариационного ряда параметров на фоне.

Рис. 2.5. Распределение объема яиц большой синицы (А) и массы слетков мухоловки-пеструшки (Б) для фоновой и загрязненных территорий: 1 – фоновая; 2 – буферная; 3 – импактная территория

Формально меру такой адаптированности к изменениям обычных природных факторов можно выразить как $K = \sum (a_{фон} \cdot a_{имп})$. Суммирование выполняется по всем совпадающим для фоновой и загрязненной территорий классовым интервалам вариационных рядов; $a_{фон}$ и $a_{имп}$ –относительные частоты этих совпадающих классовых интервалов соответственно. Вводимый нами показатель K для максимально адаптированных популяций (полное совпадение вариационных кривых) равен: $K = \sum a_{фон}^2$ и $K = 0$ при отсутствии такой адаптации

В качестве примера рассмотрим изменение вариационных кривых объемов яиц большой синицы и веса птенцов-слетков мухоловки-пеструшки, обитающих на фоновой, умеренно (буферная) и сильно (импактная) загрязненных территориях. Из рис. 2.5 видно, что вариационные кривые в условиях токсического воздействия имеют левостороннюю асимметрию и частично перекрываются с фоновыми распределениями. Это позволяет оценить, в какой мере подобные изменения параметров яиц и слетков, вызванные влиянием токсических факторов, соответствуют условиям фоновой территории.

Рассчитав показатель K для рассматриваемых участков, можно установить, что на импактной территории когорта слетков мухоловки-пеструшки примерно на 37% менее адаптирована к условиям колебания естественных параметров среды, чем птенцы фоновой. В буферной зоне приспособленность, также определяемая по массе птенцов на момент вылета, не отличается от фона. Аналогичный анализ объемов яиц у большой синицы показывает, что их соответствие условиям естественной среды снижается на буферном и импактном участках соответственно на 23% и 45%. Таким образом, под влиянием токсического стресса по мере снижения средних показателей объема яиц и массы слетков у птиц-дуплогнездников мы отмечаем уменьшение адаптированности по этим признакам.

2.2.3. РОЛЬ ПРОСТРАНСТВЕННО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ В ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТАХ

Пространственная неоднородность территории является важнейшим фактором, определяющим устойчивое существование популяции. Эколого–климатические факторы, проявляя свою прерывистость в пространственно–временных масштабах, формируют некоторую экологическую мозаику среды обитания природных популяций животных и растительных ценопопуляций. На эту естественную мозаичность природных биоценозов накладывается неоднородность полей загрязнения, вызванная спецификой воздушных потоков, особенностями рельефа местности и другими географическими параметрами территории. Независимое сочетание природных и антропогенных факторов имеет следствием не просто различие в уровнях накопления токсических веществ в отдельных элементах биоценозов, но и связанную с этим различную меру их деградации, создавая тем самым мозаичную по условиям существования среду обитания живых организмов.

При рассмотрении пространственно-временных аспектов экологической токсикологии необходимо исходить из положения С.С. Шварца, согласно ко-

торому популяция организмов представляет собой совокупность микропопуляций, связанных друг с другом общностью происхождения из единых популяционных стаций резервации.

Интересующему нас популяционному уровню организации должна соответствовать некоторая система пространственно-временных группировок организмов с малым или средним радиусами активности (например, популяции мелких млекопитающих). В рамках подобных химически деградированных территорий могут сохраняться локальные стации, пригодные для существования ядра популяции.

Группировки со стабильной структурой поддерживают оптимальную плотность популяции за счет упомянутых выше авторегуляторных механизмов, обеспечивая поддержание репродуктивного потенциала всей популяции. По концепции И.А. Шилова, возможны также периферийные временные поселения преимущественно расселяющихся молодых зверьков, в которых не исключено частичное воспроизводство численности. Остальная, наиболее деградированная площадь биогеоценоза может быть местом временного, сезонного поселения, выполняющего функции транзитной территории.

У организмов, обладающих широким радиусом активности или широкими сезонными миграциями в рамках территории токсически деградированных биоценозов, понятие стации резервации лишено смысла. Так, ежегодное мечение птиц-дуплогнездников показало, что население этих видов на загрязненных территориях ежегодно возобновляется практически полностью. В любом варианте существование природных популяций возможно лишь при стабилизирующем влиянии миграционных перемещений особей между стациями, подверженными в различной мере токсической деградации.

Поскольку расселение или ненаправленное пространственное перемещение особей на определенных этапах жизненного цикла является важнейшим свойством биологических систем надорганизменного ранга, то именно миграционные процессы играют важную роль в популяционной адаптации к действию токсических факторов.

Химическое загрязнение лесных экосистем ведет к преобразованию фитоценозов. Отмечено уменьшение емкости местообитаний мелких млекопитающих и птиц-дуплогнездников, сокращение кормовых и защитных ресурсов. Такая пессимизация среды обитания существенно модифицирует естественный ход динамики численности изученных видов. Адаптация природных популяций к подобной трансформированной среде реализуется за счет адаптивной перестройки полово-возрастной структуры популяции. Отмеченная этими авторами повышенная доля в популяции мигрирующих особей на загрязненных территориях может рассматриваться как адаптация, компенсирующая повышенную гибель животных на этих участках.

Таким образом, динамика численности в популяциях мелких млекопитающих на загрязненных или фоновых участках формируется разными способами. В естественных условиях нарастание обилия происходит за счет, как пространственной экспансии, так и локального уплотнения населения. В химически загрязненных зонах большое значение имеет пространственная миграция. При этом обилие особей в сохранившихся на загрязненных территориях благоприятных местообитаниях поддерживается на постоянном уровне.

2.2.4. ПРОЦЕССЫ ВОСПРОИЗВОДСТВА В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

Воспроизводство является одним из ключевых процессов, определяющих жизнеспособность природных популяций животных и растений. Особенно значимы эти процессы в нестабильных условиях, в том числе при химическом загрязнении среды обитания, которое следует рассматривать в качестве одного из экстремальных факторов антропогенного происхождения.

Репродуктивные потери в популяциях мелких млекопитающих.

В качестве примера рассмотрим изменение репродуктивных возможностей рыжих полевок, обитающих на загрязненных тяжелыми металлами территориях. Изучен полный цикл воспроизводства, включающий этапы: 1) оогенез, в процессе которого в яичниках животных из первичных ооцитов формируется зрелая яйцеклетка; 2) пренатальный период (эмбриогенез); 3) постнатальный период, включающий развитие сеголеток от рождения до момента полового созревания и участия в размножении.

Гистологическое исследование гонад. В качестве показателя интенсивности начальной стадии фолликулогенеза рассматривали число однослойных фолликулов. Следующие стадии выражались в количестве многослойных фолликулов без антрума и многослойных фолликулов, имеющих антральную полость. Интенсивность завершающей стадии этого этапа оценивали по числу желтых тел беременности в яичниках, которое (как правило) соответствует числу овулировавших яйцеклеток. Поскольку достоверных различий перечисленных показателей у животных с фоновых и загрязненных территорий не обнаружено, то можно говорить о достаточной защищенности от внешних токсических факторов начальных стадий фолликулогенеза

Плодовитость и эмбриональные потери. Исследования этих этапов воспроизводства были ограничены самками, у которых одновременно были зарегистрированы желтые тела беременности и эмбрионы. Потенциальная плодовитость (среднее число желтых тел на самку) составляла в импактной зоне 6,52 желтых тел, на фоновом участке она мало отличалась – 6,62. Максимальная фактическая плодовитость (среднее число жизнеспособных эмбрионов на самку) зарегистрирована у зверьков, обитающих в пессимальных условиях – 6,19 эмбрионов. При удалении от источника выбросов количество эмбрионов снижалось до 5,76.

Общие эмбриональные потери (процентная разница между средним числом желтых тел беременности и жизнеспособных эмбрионов) были максимальными на фоновой территории (до 13%) и достоверно ниже на загрязненных участках (5,06 %).

Ведущая роль в структуре эмбриональных потерь принадлежала доимплантационной гибели, на которую приходилось в среднем 70–90% общей эмбриональной смертности. По мере приближения к факелу выбросов, было зарегистрировано достоверное снижение ($p \leq 0,05$) величины доимплантационных потерь с 11,6% до 3,5%. Резорбция эмбрионов отмечалась гораздо реже, у самок с обоих участков она составляла в среднем 1,5–1,6% Доля самок с доимплантационной гибелью яиц на фоновой территории составляла 47,6% и двукратно превышала таковую (23,8%) у рыжих полевок из импактной зоны. В разные годы на фоновом участке она изменялась в интервале от 25 до 100%

от общего числа размножающихся самок, в импактной зоне колебалась от 0 до 60%. Доля самок с резорбирующимися эмбрионами невелика – за исследованный период таких самок на всех участках было не более 9,5%.

Повышенная плодовитость мышевидных грызунов в условиях химического стресса отмечена и другими авторами, что может рассматриваться в качестве одного из механизмов популяционной адаптации. Поскольку на загрязненных территориях в организмах животных содержатся более высокие уровни токсикантов, то трудно ожидать, что именно это может привести к снижению эмбриональных потерь. Очевидно, что отмеченное явление вызвано не реакцией организменного (онтогенетического) уровня, а связано с популяционными механизмами компенсации, в результате которых в популяциях сохраняются наиболее плодовитые самки.

Репродуктивная система самцов. При морфологическом изучении половой системы самцов отмечены достоверные различия в размерах семенников. На мазках препаратов их содержимого выявлены различия в составе спермиев: у самцов с загрязненных участков зарегистрировано достоверно большее число сперматозоидов с оптимальной для оплодотворения величиной головки (90,9% против 83,1% на фоновых участках) при снижении доли патологических форм (0,99 % и 2,84 %, соответственно).

Доля репродуктивно–активных особей. В течение периода наблюдений были зарегистрированы существенные различия в структуре населения: на фоновом участке в размножении участвовало менее половины самок, в импактной зоне таких животных было около 70%. Сходная тенденция была отмечена и для самцов, среди которых доля размножающихся особей при удалении от факела выбросов снижалась с 67 до 33%.

Выживаемость особей рыжей полевки. Результаты расчетов смертности полевок показали, что в летне-осенний период относительная выживаемость молодняка на участках, подверженных химическому загрязнению, составляет менее 55% от фоновой ($p \leq 0,1$).

Для анализа выживаемости зверьков в течение зимовки рассматривали процентную разницу весенней и осенней (предшествующего года) численностей животных. Из наблюдений следует, что к началу весеннего размножения в импактной зоне регистрируется в среднем 24% животных от их осенней численности, на фоновой территории выживает более 40% особей.

Таким образом, у млекопитающих лишь малая часть первичных фолликул завершает процесс онтогенеза и, будучи оплодотворенной, успешно проходит стадии внутриутробного развития. Еще меньшая часть может реализоваться среди новорожденных и принять участие в размножении. Несмотря на то, что некоторые показатели репродуктивного процесса у животных на импактных территориях превышают таковые на фоновых, высокая смертность зверьков в зонах загрязнения ведет к тому, что на всем протяжении цикла – от однослойных фолликул до размножающихся самок – репродуктивный потенциал снижается на фоновой территории в 900 раз, на загрязненной – в 1900 раз.

Репродуктивные потери птиц-дуплогнездников

Методическая доступность гнездового периода этих видов позволяет вскрыть механизмы токсического воздействия на процессы воспроизводства.

Воспроизводство населения птиц рассмотрено в градиенте токсической нагрузки при изучении нескольких последовательных этапов гнездового периода. Экотоксикологическая значимость этих этапов заключается не только в высокой чувствительности к токсическому воздействию ранних стадий онтогенеза, но и в том, что последующие стадии перепродуктивного периода у молодых птиц характеризуются значительной пространственной дисперсией даже для практически оседлых видов.

Размер кладки. Размер кладки отражает максимально возможное количество потомков на размножающуюся пару птиц, которое не всегда реализуется из-за смертности эмбрионов в период инкубации яиц и птенцов в период их выкармливания. Загрязнение среды обитания, в том числе тяжелыми металлами, для многих видов может приводить к снижению этого показателя. Наиболее ярко это явление прослеживается у мухоловки-пеструшки. В отличие от мелких млекопитающих у этого вида птиц на Среднем Урале отмечено уменьшение плодовитости в градиенте загрязнения до 33%, в Скандинавии – 11–13%.

Отмечено, что величина яиц не является показателем, специфичным к влиянию тяжелых металлов, а отражает общее неблагополучие условий как в естественных, так и в антропогенно-трансформированных экосистемах. Комплекс внешних условий определяет физиологическое состояние самок, а через них – и размеры откладываемых яиц. При этом техногенное загрязнение воздействует на размеры яиц двояко: непосредственное воздействие на организм высоких концентраций тяжелых металлов дополняется опосредованным – через изменение местообитаний.

Одна из важных оологических характеристик – толщина скорлупы. Скорлупа выполняет механическую и барьерную функции, служит депо кальция для эмбриона, через поры скорлупы происходит газообмен. Нарушение метаболизма кальция у размножающихся самок в условиях подкисления окружающей среды, а также комплексного воздействия тяжелых металлов и SO_2, приводит к появлению дефектных яиц. Поверхность скорлупы таких яиц более шероховатая, а структура кристаллов кальцита более грубая, чем в норме. Аномальная пористость скорлупы приводит к преждевременному высыханию содержимого яйца и гибели эмбрионов. Доля кладок мухоловки-пеструшки с дефектами скорлупы вблизи металлургического завода может достигать 32% при отсутствии таковых в контроле.

Успешность инкубации. Этот показатель определяется как отношение количества вылупившихся птенцов к количеству насиживавшихся яиц. В условиях техногенного загрязнения эффективность инкубации характеризует как влияние токсикантов на качество формируемых яиц и поведение родителей при их инкубации, так и их токсичность по отношению к гаметам, процессу оплодотворения и развивающимся эмбрионам.

Успешность инкубации у птиц снижается с ростом загрязненности территории. Негативные эффекты в наибольшей степени проявляются у мухоловки-пеструшки. В естественных условиях этот показатель, как правило, не опускается ниже 90%. Вблизи медеплавильных заводов успешность инкубации у мухоловки-пеструшки составила 56–61%, у большой синицы – 70–80%.

Выкармливание птенцов. Успешность выкармливания представляет собой долю птенцов, покинувших гнездо, от количества вылупившихся. На процесс выкармливания птенцов на загрязненной территории оказывают влияние два противоположно направленных фактора. С одной стороны, результативность инкубации и выкармливания птенцов в гнезде определяется прямым воздействием загрязнителей на взрослых птиц и их потомство. С другой стороны, уменьшение числа птенцов в гнезде на загрязненной территории ведет к увеличению количества корма, приходящегося на каждого птенца, что должно повышать эффективность выкармливания. Таким образом, рассматриваемый показатель отражает некоторый интегральный эффект.

Повышенная смертность птенцов в зонах сильного загрязнения, несомненно, связана с высокими концентрациями тяжелых металлов, поступающих в организм птенцов в период их выкармливания. Это подтвердили опыты с заменой яиц в гнездах импактной территории привезенными с фонового участка, и наоборот.

Очевидно, снижение эффективности выкармливания в зоне максимального загрязнения тяжелыми металлами объясняется несколькими причинами. Одна из важнейших – нарушение физиологических процессов у птенцов вследствие интоксикации. Средняя масса печени и головного мозга, концентрация гемоглобина в крови и других гематологических показателей у птенцов мухоловки-пеструшки в зоне воздействия металлургического завода оказалась достоверно меньше, чем в контроле. В качестве примера приведем распределение массы птенцов на момент вылета из гнезда (рис. 2.5)

Успешность размножения. Успешность размножения представляет собой долю (в %) покинувших гнездо птенцов от количества отложенных яиц и характеризует эффективность инкубации и выкармливания птенцов. Химическое загрязнение среды обитания тяжелыми металлами способно приводить к уменьшению успешности размножения птиц. Выявлено достоверное снижение этого показателя в градиенте нагрузки у всех дуплогнездников: для мухоловки-пеструшки – в 2 раза, для большой синицы – в 1,5 раза, для московки – в 1,3 раза. Один из факторов, влияющий на успешность размножения, – оставление самками незаконченных кладок.

Еще один пример опосредованного воздействия загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами на воспроизводство птиц – изменение защитных свойств биотопа. Воздействие хищников на открыто гнездящиеся виды зависит во многом от степени укрытости их гнезд. Сильное повреждение листвы деревьев и кустарников промышленным воздушным загрязнением проявляется в преждевременном опадании листвы в самый разгар гнездового сезона. Это способно приводить к демаскировке и массовому разорению хищниками гнезд, расположенных в древесно-кустарниковом ярусе.

Количество слетков. Для оценки процессов воспроизводства в группировках птиц используют среднее количество слетков на размножавшуюся пару, включая неуспешные гнезда. Это показатель – важный демографический параметр, так как позволяет определить способность той или иной группировки птиц воспроизводить себя, а также вносить полноценный вклад в воспроизводство всей популяции вида.

Как и вышеописанные репродуктивные параметры, количество слетков на гнездо уменьшается в окрестностях металлургических заводов. Это отмечено для мухоловки-пеструшки, большой синицы и мохноногого сыча в Скандинавии. Снижение этого показателя в градиенте нагрузки на Среднем Урале составило для мухоловки–пеструшки – 3,2 раза, для большой синицы – 2 раза, для московки – 1,6 раза. Количество слетков на гнездо у мухоловки–пеструшки (а также, вероятно, и у большой синицы) явно недостаточно для воспроизводства их группировок в зоне максимального загрязнения (рис. 2.6).

Рис. 2.6. Выживаемость потомства мухоловки-пеструшки (1, 2) и большой синицы (3, 4) в буферной (1, 3) и импактной (2, 4) зонах загрязнения, % контроля

Воспроизводство в растительных ценопопуляциях

Подавление репродуктивной функции растений под влиянием токсических факторов среды обусловлено, с одной стороны, ухудшением их общего жизненного состояния, с другой – непосредственным влиянием токсикантов на репродуктивные органы (Савинов, 1998; Евсеева и др., 2002 и др.). Это общее положение показано на голосеменных и покрытосеменных растениях.

Естественно полагать, что благополучие таких ценопопуляций, как при произрастании в ненарушенных условиях, так и при химическом загрязнении среды, определяется следующими последовательными этапами онтогенеза: созреванием полноценных семян, их прорастанием в конкретных условиях среды, образованием жизнеспособных проростков и успешным протеканием онтогенеза до момента формирования генеративных особей, способных к новому воспроизводству.

Чаще всего влияние неблагоприятных природных и антропогенных факторов среды можно оценить количеством семян, проростков или особей различных возрастных состояний, элиминируемых в процессе онтогенеза из ценопопуляции. Однако подобный подход не отражает общих репродуктивных уси-

лий генеративных растений, направленных на поддержание численности ценопопуляции.

Известно, что общие энергетические затраты растений, включающие дыхание, прирост биомассы, производство семенного потомства и другие, зависят от условий произрастания. С точки зрения популяционной экотоксикологии определяющим является не столько полные энергетические затраты, сколько та часть энергии, которая затрачена материнским растением на формирование семенного потомства в зависимости от уровня химического загрязнения среды.

В качестве общих энергетических затрат растений на семенное воспроизводство, на наш взгляд, можно принять суммарную энергию, затраченную на формирование пластического вещества всех выполненных и невыполненных семян отдельного материнского растения. В этом случае дополнительные энергетические затраты на формирование семенного потомства на загрязненных участках можно рассматривать в качестве необходимой энергетической компенсации за возможность в этих условиях обеспечить постоянство численности ценопопуляции.

В качестве примера рассмотрим ценопопуляции *Taraxacum officinale* s.l. – многолетнего, стержнекорневого поликарпика (одуванчика лекарственного). Семена его образуются посредством нередуцированного партеногенеза.

Рассмотрены участки с различным уровнем загрязнения почв тяжелыми металлами. При анализе частоты встречаемости растений с различным количеством семян отмечено, что закономерное повышение общей семенной продуктивности обеспечивается за счет увеличения доли высокопродуктивных особей при максимальном уровне загрязнения. Отмеченный факт свидетельствует об исходной гетерогенности ценопопуляций *T. officinale* s.l., в результате чего на импактной территории сохраняется большая доля высокопродуктивных особей за счет элиминации иных вариантов.

Общая семенная продуктивность отражает энергетические затраты растения на полное семенное воспроизводство, однако лишь часть ее может реализоваться в виде полноценных (выполненных) семян, способных прорасти и дать жизнеспособные проростки. Энергия, затраченная на производство невыполненных семян, соответствует потерям на этапе формирования семенного потомства. В нашем случае в градиенте химического загрязнения возрастает не только количество невыполненных семян у каждого растения. Следовательно, энергия, затраченная на формирование только полноценного потомства, составляет лишь часть общих энергетических затрат.

Последующие этапы всхожести семян и выживаемости проростков определяли в опыте при культивировании семян в чашках Петри на почвах из мест произрастания материнских растений.

В экспериментальных и в природных условиях не все семена способны прорастать, а проростки выживать и формировать настоящий лист, т.е. переходить к автотрофному питанию. Это значит, что на этих этапах онтогенеза будет потеряна еще какая-то часть материнской энергии, потраченной на семенное воспроизводство

Завершающие этапы онтогенеза, характеризующие переход проростков через ювенильное, имматурное и виргинильное возрастные состояния в гене-

ративное, также сопровождаются частичным отмиранием растений. Продолжают возрастать потери энергии, первоначально затраченной родительскими растениями на формирование семенного потомства.

Наблюдение за мечеными растениями показало, что общий баланс численности каждой возрастной группы у *T. officinale* s.l., произрастающей в градиенте токсической нагрузки, в большей степени обусловлен процессами элиминации особей, чем онтогенентическим развитием (переход в следующее возрастное состояние). Полное доминирование процессов отмирания показано для всех возрастных групп одуванчика на всех участках.

Рассмотренный выше в градиенте химического загрязнения почв расход энергии, затраченной материнскими растениями на семенное воспроизводство от момента формирования семян до достижения молодыми особями генеративного состояния, может быть представлен в виде поэтапной потери энергии, затраченной растением на общее семенное воспроизводство (рис. 2.7).

Рис. 2.7. Энергетические затраты растений на различных этапах онтогенеза (О.З. – общие энергетические затраты материнских растений на воспроизводство, количество энергии, реализуемой на различных этапах онтогенеза: c – на стадии семян, p – проростков, j – ювенильных и v – виргинильных растений)

На стадии молодых генеративных растений всех исследуемых ценопопуляций реализуется практически одинаковый энергетический ресурс, равный 3,4–4,0% (0,076–0,1 ккал/раст.) общих энергетических затрат материнских растений. Видимо, этой «полезной» энергии достаточно для поддержания ценопопуляцией необходимого уровня численности. В этом случае избыточные энергетические затраты материнских растений на формирование семенного потомства на загрязненных участках следует рассматривать в качестве необходимой компенсации за возможность в этих условиях обеспечивать достаточное семенное воспроизводство.

К таковым следует отнести этап формирования полноценного потомства, в течение которого отмечен значительный отход невыполненных семян. Макси-

мальные энергетические потери происходят также на этапе имматурных растений, обусловленные повышенной гибелью их в этом возрастном состоянии.

С другой стороны, в онтогенезе имеются стадии, на которых гибель растений минимальна, а следовательно, незначительны энергетические потери. Это относится к периоду от момента выживания проростков до перехода их к автотрофному питанию (ювенильные растения), а также к виргинильному возрастному состоянию.

2.3. БИОГЕОЦЕНОТИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ

На биогеоценотическом уровне протекают вещественно-энергетические круговороты, вызванные жизнедеятельностью организмов, в который вовлекаются и токсические элементы, загрязняющие среду. С.С. Шварц дал определение «хорошего» биоценоза, который должен отвечать следующим требованиям:

- Продукция (биомасса) на всех трофических уровнях должна быть высокой, превышение фитомассы над зоомассой не должно быть резко выражено.
- Высокой продукции должна соответствовать высокая продуктивность. Это необходимо для быстрой компенсации возможных потерь биомассы на отдельных трофических уровнях в результате внешнего воздействия.
- Разнородность трофических уровней и структура биоценоза должны способствовать высокой его стабильности в широком диапазоне внешних условий.
- Скорость биологической самоочистки и деградации поллютантов должна быть максимальной за счет большой скорости обмена вещества и энергии (обеспечение биологического круговорота в течение немногих годовых циклов).
- Высокая резервная активность (способность к быстрой перестройке структуры биогеоценозов) должна дополнять высокую продуктивность и стабильность системы, чтобы поддерживать ее в оптимальном состоянии при изменении условий среды.

Таким образом, если биоценоз способен в измененной человеком среде поддерживать себя как систему, то это означает, что степень токсического воздействия не превышает возможности биологической системы, не подрывает ее способность к гомеостазу.

Одним из показателей влияния химического загрязнения является изменение ***первичной продукции*** биоценоза – общего количества органического вещества, производимого сообществом фотосинтезирующих продуцентов за единицу времени на единицу площади.

Так, при концентрациях ДДТ в воде водоемов в 10^{-8} г/г сокращается интенсивность фотосинтеза на 20–50%, при концентрации того же пестицида в 10^{-7} г/г отмечено дальнейшее снижение на 80%. Имеются и другие примеры снижения продуктивности под влиянием загрязнения (например, снижение фотосинтеза хвойных видов при загрязнении атмосферы сернистым газом).

Рис. 2.8. Зависимость количества видов (А) и общей плотности населения (Б) птиц от уровня загрязнения экосистем бореальных лесов. Объединенные данные по Кольскому полуострову (∘) и Среднему Уралу (□)

Часто для оценки состояния биогеоценоза используют показатели ***биологического разнообразия.*** При этом общей закономерностью является то, что выживающие виды, как правило, имеют более мелкие размеры тела и меньшую продолжительность жизни. Часто выпадение каких-либо видов ведет к усиленному развитию других видов, изменяя уровень доминирования. Для оценки эффектов подобного рода могут быть использованы разнообразные критерии сходства состава (индекс Шеннона, коэффициент общности Соренсена, индекс разнообразия Симпсона и др.).

Используя такие индексы, мы можем количественно оценить меру изменения структуры ценоза под влиянием любого вида антропогенного воздействия. В качестве примера приведем данные о трансформации структуры сообществ птиц в условиях химического загрязнения среды по некоторым зонам бореальных лесов Европы. Основные закономерности техногенной динамики птиц совпадают во всех районах. При максимальном токсическом воздействии общее количество видов птиц снижается по сравнению с региональным фоном (рис. 2.8, А). Аналогично уменьшается и плотность гнездового населения (рис. 2.8, Б). Наиболее резкое снижение отмечено в северной тайге – в 7,7 раза.

Интересны данные по динамике почвенной фауны в лесах вокруг Чернобыля. При поверхностном загрязнении почв радионуклидами в апреле – мае 1986 года через два месяца наблюдалась полная катастрофа в зооценозах почвы, когда погибло более 90% видов беспозвоночных – обитателей почвы. По мере радиоактивного распада уже к 1987 году доза облучения снизилась в десятки раз, и началось медленное восстановление популяций и сообществ. Общая численность микроартропод восстановилась через 2–3 года, однако их биоразнообразие достигло только 50% от контрольного значения (рис. 2.9). С 1993 по 1995 гг. началось восстановление биоразнообразия у поверхностно обитающих видов, которые стали обильны в почвах, а количество видов во всех горизонтах почвы составило уже 75–80% от контроля. Приводимые данные иллюстрируют редкий случай анализа механизмов и темпов реабилитации химически загрязненных территорий.

Рис. 2.9. Динамика плотности населения и видового разнообразия почвенной микрофауны в 3 км от Чернобыльской АЭС (Криволуцкий, 1996)

С другой стороны, увеличение видового разнообразия может свидетельствовать о вызванной химическим загрязнением среды деградации природных биогеоценозов. В этом случае в ценозе появляются «нетипичные» животные, приуроченные к открытым местообитаниям или синантропные виды.

К сожалению, диагностика состояния систем биогеоценотического уровня сегодня наименее разработанный раздел экологической токсикологии. Это связано, прежде всего, с недостаточной теоретической разработанностью проблем функционирования систем такого ранга. Сложность заключается и в неизбежной нашей антропоцентристской позиции, согласно которой понятие «хорошего» для биогеоценозов не всегда соответствует биосферным интересам человека.

Глава 3

ОБЩАЯ ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

Уже на ранних стадиях становления человеческого общества в процессе обработки минерального и органического сырья и при использовании получаемого продукта человек и другой живой объект зачастую подвергался неблагоприятному воздействию различных химических веществ. С развитием технологии химическое воздействие увеличивалось, причем в первом приближении он носило экспоненциальный характер, а в настоящее время можно говорить уже о резко восходящей части экспоненты, что обусловлено ростом энергопотребления, развитием промышленности, ростом городов, увеличением парка автотранспортных средств и др. Осознав химическую опасность, человечество стремится ее минимизировать, на что направлены усилия различных гигиенических, технологических, юридических и иных специальных служб. Нередко это приносит положительные результаты. Примером может служить широкое внедрение в практику процесса каталитического дожигания автомобильного топлива, разработка способов все более совершенной защиты атомных электростанций и многое др.

И все же увеличение химического загрязнения отмечается во всех элементах окружающей среды – в воздухе, воде и почве, причем все более возрастают интенсивность и масштабы распространения химических загрязнителей[4]. Примеров тому немало: кислотные дожди, загрязнения морей при авариях нефтеналивных судов, техногенные катастрофы. Во многих случаях картина загрязнения весьма сложна, поскольку к разнообразным химическим компонентам добавляются физические воздействия в виде электромагнитных и радиоактивных излучений, шума, температуры и др. Среди химических загрязнителей на первое место выходят синтетические вещества, не встречающиеся в природе, например, печально известное семейство диоксинов. Загрязнители могут реагировать с другими химическими веществами, образуя новые соединения с неизвестными токсикологическими характеристиками.

Загрязнение среды неизбежно и тогда, когда в ходе военных конфликтов используются различные химические средства или происходят утечки опасных веществ, пожары и т.д. Классические примеры тому – войны во Вьетнаме, в Персидском заливе, на Балканах.

Для успешного предотвращения загрязнения среды обитания химическими веществами и их воздействия на человека и биосферу в целом необходимы

[4] 1. Загрязнитель – любой природный или антропогенный агент, попадающий в окружающую природную среду в количествах, превышающих фоновые значения и вызывающий тем самым её загрязнение. 2. Загрязнителем также именуют и источник загрязнения, например, завод или полигон ТБО.

согласованные усилия всех государств и многих организаций. При этом в основе таких усилий должно лежать знание, причем знание разнообразное – это и источники антропогенного загрязнения, и физико-химические свойства загрязнителей, и их непосредственное и отдаленное токсическое действие не только на человека и животных, но и на обитателей водоемов, на растения и биоценозы. Необходимы сведения о поведении химических веществ во всех элементах окружающей среды, об их превращениях под влиянием различных факторов, о токсических и допустимых уровнях загрязнителей, о способах их индикации, о научно обоснованных гигиенических мероприятиях при их производстве и применении и о многом другом. Материалы, содержащие подобные сведения, рассеяны по разнообразным источникам. Чаще всего это статьи в многочисленных журналах, а также узковедомственные издания, нередко малодоступные, воспользоваться которыми бывает крайне затруднительно.

3.1. ПОНЯТИЕ О ЗАГРЯЗНЕНИИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

В последние десятилетия резко возросла опасность химического загрязнения окружающей природной среды.

Загрязнением *в узком смысле считается привнесение в какую-либо среду новых, нехарактерных для нее физических, химических и биологических агентов или превышение естественного среднемноголетнего уровня содержания этих агентов в среде.* Например, в «Толковом словаре по охране природы» (1995) дается такое определение: загрязнение – *все то, что находится не в том месте, не в то время и не в том количестве, какое естественно для природы, что выводит ее системы из состояния равновесия и отличается от обычно наблюдаемой нормы.* Загрязнение может быть вызвано любым агентом (загрязняющим веществом), в том числе самым чистым. Загрязнение может возникать как в результате естественных причин (природное), так и под влиянием деятельности человека (антропогенное).

С экологических позиций загрязнение означает не просто привнесение чуждых компонентов. В любом случае объектом загрязнения является элементарная структурная единица биосферы – биогеоценоз. Наличие чужеродных веществ обусловливает изменение эволюционно сложившихся режимов экологических факторов, что приводит к нарушению обменных и продукционных процессов, а следовательно, и к падению продуктивности и устойчивости биогеоценозов в целом. Загрязнение представляет собой комплекс «помех» в экологических системах, приводящий к их деградации.

С экологической точки зрения сущность загрязняющих воздействий более адекватно отражает определение, согласно которому *загрязнение окружающей среды* есть любое внесение в ту или иную экологическую систему (биогеоценоз) несвойственных ей живых или неживых компонентов, или структурных изменений, прерывающих круговорот веществ, их ассимиляцию, поток энергии, вследствие чего снижается продуктивность данной экосистемы или она разрушается.

Заслуживает, разумеется, внимания и более широкое толкование термина *«загрязнение»,* содержащееся в докладе комиссии Белого дома «Чтобы восстановить

качество окружающей среды» (1965): *«Загрязнение есть неблагоприятное изменение окружающей среды, которое целиком или частично является результатом человеческой деятельности, прямо или косвенно меняет распределение приходящей энергии, уровни радиации, физико-химические свойства окружающей среды и условия существования живых существ. Эти изменения могут влиять на человека прямо или через сельскохозяйственные ресурсы, через воду или другие биологические продукты (вещества). Они также могут воздействовать на человека, ухудшая физические свойства предметов, находящихся в его собственности, условия отдыха на природе и обезображивая ее саму».*

В соответствии с материалами Международной конвенции об оценке воздействия на окружающую среду в трансграничном контексте (1991) *к экологически опасным отнесены следующие виды производств и объектов:*

- атомная промышленность (установки, предназначенные для производства обогащенного ядерного топлива, регенерации отработанного ядерного топлива или сбора, удаления и переработки радиоактивных отходов);
- энергетика (атомные, гидравлические и тепловые электростанции, крупные установки для сжигания топлива);
- черная и цветная металлургия (установки для доменного и мартеновского производств, предприятия черной и цветной металлургии, машиностроительные и металлообрабатывающие предприятия);
- нефтехимия, нефте- и газопереработка;
- химическая промышленность (химические комбинаты, производство асбеста, стекла, минеральных удобрений, пестицидов и др.);
- добыча полезных ископаемых (включая нефть и газ);
- транспортировка нефти и газа, продуктов их переработки;
- производство целлюлозы, бумаги, картона;
- транспортировка, хранение, утилизация и захоронение токсичных и ядовитых отходов;
- производство, хранение, транспортировка и уничтожение боеприпасов, взрывчатых веществ и ракетного топлива;
- крупные склады для хранения нефтяных, нефтехимических, химических продуктов, пестицидов;
- строительство дорог, автострад, трасс для железных дорог дальнего сообщения, аэропортов с длиной посадочной полосы более 2 км;
- сельскохозяйственные объекты (животноводческие комплексы и птицефабрики, мелиоративные системы);
- крупные водозаборы поверхностных и подземных вод;
- крупные плотины и водохранилища, вырубка лесов на больших площадях;
- легкая промышленность (фабрики по очистке, отбеливанию шерсти, кожевенные заводы, красильные фабрики).

Кроме указанных стационарных источников возможных негативных воздействий на окружающую природную среду, несомненную экологическую опасность, особенно в больших городах, представляет *автотранспорт,* газовые выбросы которого, возрастая с каждым годом, составляют значительную долю поступающих загрязнений.

С точки зрения экологической токсикологии важными являются вещества, способные взаимодействовать с живыми организмами. Как правило, это соединения, находящиеся в газообразном или жидком состоянии, в форме водных растворов, частиц, адсорбированных почвами, а также твердые вещества в виде мелкодисперсной пыли (размер частиц менее 50 мкм). Особую роль играют вещества, поступающие в организм с пищей.

Часть их утилизируются организмами, участвуя в процессах пластического и энергетического обмена с окружающей средой, т.е. выступают в качестве ресурсов среды обитания. Другие же, поступая в организм животных и растений, не используются как источники энергии или в качестве пластического материала, но проявляют способность, при условии достаточных доз и концентраций, модифицировать течение нормальных физиологических процессов. Такие соединения называются *чужеродными или ксенобиотиками* (чуждые жизни).

Совокупность подобных веществ, содержащихся в окружающей среде (воде, почве, воздухе и живых организмах), способных вступать в химические и физико-химические взаимодействия с биологическими объектами экосистемы, часто определяют как ксенобиотический профиль биогеоценоза. *Ксенобиотический профиль* среды следует рассматривать в качестве важнейшего фактора (наряду с температурой, освещенностью, влажностью, трофическими условиями и т.д.), который может быть описан качественными и количественными характеристиками.

Подобную интегральную характеристику среды, сформировавшейся в ходе эволюционных процессов, миллионы лет протекавших на планете, можно определить как *естественный ксенобиотический профиль*. Он различен в разных регионах Земли. Биоценозы, существующие в этих регионах (биотопах), в различной степени адаптированы к соответствующим естественным условиям.

Для характеристики различных неблагоприятных воздействий *применяют стресс-индексы загрязняющих веществ*, отражающие меру экологической опасности:

Загрязняющие факторы:	*Стресс-индекс:*
Пестициды	140
Тяжелые металлы	135
Транспортируемые отходы АЭС	120
Твердые токсичные отходы	120
Взвешенные металлы в металлургии	90
Неочищенные сточные воды	85
Диоксид серы	72
Разливы нефти	72
Химические удобрения	63
Органические бытовые отходы	48
Оксиды азота	42
Хранилища радиоактивных отходов	40
Городской мусор	40
Фотохимические оксиданты	18
Летучие углеводороды в воздухе	18
Городские шумы	15
Оксид углерода	12

Повышенные концентрации химических веществ в окружающей среде оказывают специфическое и неспецифическое влияние на живые организмы.

Специфическое действие обусловлено участием химических элементов в определенных биохимических реакциях в конкретных видах живых организмов. Проявляется оно, как правило, при резком дефиците или при воздействии высоких концентраций этих элементов. *Неспецифическое* влияние наблюдается в тех случаях, когда длительное действие малых концентраций химических веществ вызывает у живых организмов обострение болезней, вызванных причинами, не связанными с нарушением биохимических процессов, протекающих с участием этих веществ. Они усугубляют действие прямых источников болезни, что ведет к обострению хронических болезней, к нарушению функционирования системы в ее наиболее слабом звене.

Виды специфического действия химических веществ на живые организмы разнообразны. Они оказывают:

1) *канцерогенное влияние,* то есть вызывают злокачественные образования. Различают истинные канцерогены, канцероподобные, коканцерогенные вещества. К *истинным* канцерогенам относятся те, которые непосредственно ведут к злокачественной трансформации клеток в живых организмах. Такой способностью обладают полиароматические углеводороды, нитрозосоединения и один из самых сильных канцерогенов – бензопирен. *Проканцерогены* – вещества, метаболиты которых оказывают канцерогенное действие. *Коканцерогены* – вещества, обладающие слабым онкогенным эффектом факторы (кротоновое масло, ультрафиолетовое излучение и др.), усиливающие действие онкогенных агентов;

2*) тератогенное действие*, с которым связаны пороки индивидуального развития, а также уродства в различных организмах. Эти изменения могут наблюдаться на уровне индивидуума, но могут быть закреплены и на генетическом уровне (определенного вида клеток или генотипа организма в целом). Примером могут служить гигантизм, карликовость растений в зоне геохимических аномалий. Наличие морфологических изменений растений используется при поиске металлических руд в регионе. Тератогенный эффект может вызвать избыток, недостаток элементов в окружающей среде или нарушение их соотношения. Он может быть спровоцирован также ксенобиотиками, например пестицидами;

3) *эмбриотропное действие (*применительно к позвоночным животным его называют бластогенным), состоящее в нарушении развития эмбриона и вследствие этого, возникновение уродств, различных аномалий живых организмов. Под влиянием алкоголя, свинца, ртути, недостаточно изученных лекарственных препаратов возможны внутриутробные пороки плода на разных стадиях его развития и даже гибель. Примером может быть лекарственный препарат талидомид, который был рекомендован как снотворное средство беременных женщин, но вскоре был запрещен, так как вызывал у плода заболевание нервной системы, общую задержку роста, кожные язвы;

4) *аллергическое действие* состоит в нарушении реакции организмов на повторное воздействие на них микробов, чужеродных белков, которое ведет к снижению иммунитета. Аллергию вызывают различные вещества природного и техногенного происхождения.

Таблица 3.1 иллюстрирует примеры токсичности химических веществ.

Перечень опасных химических веществ для различных природных сред близок в разных странах. В программе СКОПЕ (ООН) наиболее опасными элементами названы Cd, Pb, Hg, As. В программе США по окружающей среде контролю в водах подлежат Sb, As, Ba, Be, Cd, Cr, Cu, Fe, Zn, Hg, Ni, Ag. В воздухе контролируется содержание As, Be, Cd, F, Pb, Hg, эти же вещества контролируются в почве.

В полной мере оценить меру химической деградации среды возможно лишь при сравнении фоновых уровней химических веществ с реально существующим их содержанием в биологических объектах.

Таблица 3.1

Эффекты избирательной токсичности загрязняющих веществ для человека

Элемент	Заболевание
Мышьяк	Рак легких, кожные болезни, включая изъязвление, гематологические эффекты, включая анемию
Бериллий	Дерматиты, воспаление слизистых оболочек
Кадмий	Острые и хронические респираторные заболевания, почечная дисфункция, злокачественные образования
Хром	Рак легких, злокачественные образования в желудочно-кишечном тракте, дерматиты
Свинец	Нарушения кроветворения, повреждение печени и почек, нейрологические эффекты
Ртуть	Воздействие на нервную систему (включая краткосрочную память), нарушение сенсорных функций координации, почечная недостаточность
Никель	Респираторные заболевания, включая астму, нарушение дыхательной защитной системы, поражение плода и уродства
Таллий	Биоаккумуляция, токсичность по отношению к растениям и животным
Ванадий	Раздражение дыхательных путей, астма, нервные расстройства, изменения формулы крови

Химические элементы, распределенные в объектах окружающей среды, – важнейшее природное явление, отражающее интенсивность глобальных и региональных биогеохимических циклов. Известно, что природные системы и живые организмы более чем на 99% образованы из 15–20 основных химических элементов. Остальные, определяемые В.И. Вернадским (1954) как рассеянные элементы, несмотря на малые концентрации, обладают высокой геохимической активностью, а масштабы их обмена в природных средах огромны. В соответствии с учением В.И. Вернадского о биосферной функции живого вещества, следует говорить о нескольких уровнях биогеохимических циклов.

В основе их лежит пул элементов в литосфере, пространственное и концентрационное своеобразие которого отражают кларки (средние концентрации) этих элементов. Участие живого вещества в биогеохимических циклах начинается с уровня продуцентов. Растения, подобно геохимическому насосу «перекачивают» макро- и микроэлементы из почвы в биологический круговорот. Отметим, что элементный состав этого уровня не аналогичен составу почвенного кларка. Имеет место своеобразный «геохимический отбор», определяемый неодинаковой биологической доступностью форм химических со-

единений в почвах, спецификой зональных типов растительности, избирательностью процессов поглощения химических элементов и их соединений растениями и животными.

Подобный же отбор имеет место при включении в биогеохимические циклы следующего уровня – первичных консументов. Этим определяются особенности спектра химических элементов у животных-фитофагов, не совпадающие с почвенными и растительными кларками. Вместе с тем особенности химического состава растений и животных дают своего рода биогеохимический портрет отдельных природных и техногенных экосистем, отражающий их биогеохимическое своеобразие. В отличие от основных химических компонентов биоты, рассеянные элементы динамично изменяют свои концентрации в живых организмах в ответ на изменение внешних условий. Это явление, оперативно отражая своеобразие отдельных ландшафтов и уровень антропогенной нагрузки, может быть использовано для мониторинга состояния природных комплексов.

К настоящему времени накоплен значительный фактический материал по содержанию основных, главным образом физиологически значимых, химических элементов в различных видах растительности. Меньше сведений о накоплении рассеянных элементов животными-консументами. При этом список анализируемых элементов далеко не исчерпывает всего многообразия их химического состава. Как правило, речь идет о неполном геохимическом портрете этого уровня экосистем.

3.2. КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ КРИТЕРИИ АКТИВНОСТИ ЭКОТОКСИКАНТОВ

Критерии, показатели и методы определения пороговых доз и концентраций веществ, загрязняющих объекты окружающей среды, разделяют на группы:

- *статистические* – подтверждающие или отклоняющие нулевую гипотезу об отсутствии статистически значимых различий в значениях показателей функционального состояния животных контрольной и экспериментальных групп при воздействии пороговых доз (концентраций) химических веществ;
- *токсикодинамические*, отвечающие на вопрос «что вещество делает с организмом»;
- *токсикокинетические*, отвечающие на вопрос «что организм делает с веществом».

Особое значение имеет проблема оценки сравнительной токсичности при *комплексном* воздействии веществ, поступающих в организм с водой, пищей и воздухом. Высокая актуальность этой проблемы очевидна – одновременное загрязнение различными ксенобиотиками нескольких объектов окружающей среды в одном пункте не является редкостью. Количественным критерием безопасности в этих условиях может служить *допустимая суточная доза. Допустимая суточная доза (**ДСД**) – это максимальная безвредная доза вещества, которая при ежедневном раздельном или комплексном поступлении в организм человека и живых организмов (одновременно с водой, воздухом и пищей или при вдыхании – ингаляционно, заглатывании – энтерально и через кожу – транскутанно) в течение всей жизни не должна оказывать прямого или опосредованного влияния на здоровье в настоящем или последующих поколениях.*

Дальнейшее совершенствование единых подходов к оценке токсичности и опасности химических веществ, поступающих в организм с воздухом, водой и пищей, на основе допустимых суточных доз связано с решением ряда *теоретических и методических проблем, а именно требуется:*

• разработка рекомендаций относительно метода учета аллергенного действия веществ при установлении коэффициентов запаса для расчета ДСД;

• совершенствование методов оценки сравнительной токсичности металлов и эссенциальных элементов, загрязняющих пищевые продукты. В рамках этой задачи особое теоретическое и практическое значение имеет изучение токсического действия биосвязанных форм металлов, присутствующих в продуктах питания;

• разработка метода оценки вклада транскутанного пути поступления веществ;

• изучение характера комплексного действия веществ в условиях интермиттирующего воздействия на уровнях, близких к недействующим дозам и концентрациям. Актуальность этого вопроса обусловлена реальными условиями экспозиции, когда средневзвешенные во времени концентрации не превышают предельно допустимых, но периодические пики достигают уровня токсических.

Единые подходы к оценке токсичности и опасности химических веществ, поступающих в организм с воздухом, водой и пищей, на основе допустимых суточных доз целесообразно использовать при обосновании региональных нормативов и оценке риска химического загрязнения окружающей среды для здоровья населения.

Основные направления международной стратегии в области химической безопасности сводятся к следующему:

1. Понимание химического фактора, аналогично радиационному, как интегральной опасности нанесения ущерба здоровью человека и природной среде.

2. Создание на международном и национальном уровнях структур, специализированно занимающихся проблемой химической безопасности во всех ее аспектах.

3. Изучение реального состояния окружающей среды, источников ее загрязнения и состояния здоровья людей на основе учета всех факторов, в том числе и обеспечивающих безопасное обращение химических веществ.

4. Создание «национальных профилей» по рациональному использованию химических веществ с целью определения приоритетных направлений для координации деятельности по обеспечению химической безопасности.

5. Расширение и активизация деятельности по оценке риска, связанного с производством и применением химических веществ.

6. Гармонизация классификации и маркировки химических веществ.

7. Обмен информацией о токсичных веществах и связанных с ними факторах риска.

8. Разработка программ по уменьшению риска воздействия химических веществ.

9. Укрепление национального потенциала и потенциала рационального использования химических веществ.

10. Предотвращение незаконного международного оборота токсичных и опасных продуктов.

В рамках перечисленных стратегических направлений во главу угла ставится вопрос о приоритетных с точки зрения опасности химических веществах и составах. Перечень приоритетных загрязнителей атмосферного воздуха, воды, воздуха рабочей зоны представлен в табл. 3.2.

Таблица 3.2

Перечень приоритетных загрязнителей (Курляндский, 2004)

Атмосферный воздух	Вода водных объектов	Воздух рабочей зоны
Акрилаты	Альдрин*	Альдрин*
Алифатические непредельные углеводороды	Анилин	Аммиак
Алифатические предельные углеводороды	Ацетон	Анилин
Альдрин*	Бензол	Асбест
Аммиак	Гексабромдифенил*	Ацетон
Анилин	Гексахлорбензол*	Бензин
Асбест	Гептахлор*	Бензол
Ацетон	ДДТ*	Винилхлорид
Бенз[а]пирен	Дильдрин*	Гидразин и его производные
Бензол	Железо	Гексабромдифенил*
Винилхлорид	Кадмий и его соединения	Гексахлорбензол*
Гексабромдифенил*	Линдан*	Гептахлор*
Гексахлорбензол*	Мирекс*	Дихлорэтан
Гептахлор*	Никель и его соединения	ДДТ*
ДДТ*	Нефтепродукты	Дильдрин*
Дильдрин*	Озон	Ксилол
Кадмий и его соединения	Полициклические ароматические углеводороды*	Кадмий и его соединения
Линдан*	Пентахлорфенол*	Линдан*
Медь и ее соединения	Полихлорированные диоксины*	Марганец и его соединения
Метилмеркаптан	Ртуть и её соединения	Мирекс*
Мирекс*	Свинец и его соединения	Никель и его соединения
Никель и его соединения	Синтетические ПАВ	Озон
Озон	Стирол	Оксиды азота
Оксиды азота	Токсафен*	Оксиды углерода
Оксиды углерода	Толуол	Полициклические ароматические углеводороды*
Полициклические ароматические углеводороды*	Фенол	
Пентахлорфенол*	Фтор	Пентахлорфенол*
Полихлорированные диоксины*	Хлордан*	Полихлорированные диоксины*
Ртуть и ее соединения	Хлорированные парафины с короткой цепочкой*	Ртуть и ее соединения
Свинец и его соли	Хлорорганические соединения	Свинец и его соединения
Серная кислота	Хром и его соединения	Сероводород
Сероводород	Эндрин*	Серная кислота
Сероуглерод		Сернистый ангидрид
Синтетические жирные кислоты		Стирол
Стирол		Токсафен*
Токсафен*		Толуол
Фенол		Фенол
Формальдегид		Фтористый водород
Хлордан*		Хлордан*
Хлорированные парафины с короткой цепочкой* Хлористый водород Эндрин*		Хлорированные парафины с короткой цепочкой* Хлороводород
		Хром и его соединения
		Эндрин*

* Вещества, подлежащие запретительным мерам и (или) использование которых подлежит ограничению.

Основные принципы, по которым устанавливается приоритетность, базируются, прежде всего, на оценке потенциальной возможности веществ воздействовать на геном человека и других живых организмов и нарушать способность к воспроизводству себе подобных, а также на оценке опасности веществ, разрушающих эндокринную и иммунную системы и вызывающих злокачественные новообразования. К числу приоритетных относятся также вещества, способные вызывать острые отравления. Обращает на себя внимание то, что в основе определения приоритетности, с точки зрения характера токсикологического воздействия, преимущество в мировой практике отдается веществам, обладающим выраженными специфическими свойствами.

Что касается физико-химических свойств веществ, то здесь приоритетными являются *персистентность* (стабильность) и *способность накапливаться* в организме и окружающей среде, критерии оценки которых включены в текст Стокгольмской конвенции (Стокгольм, Швеция, 22 мая 2001).

Существенное внимание при определении приоритетности уделяется *объемам производства химических веществ*. Так, по данным Межправительственного форума по химической безопасности (МФХБ), сегодня до 40 тысяч производимых в мире веществ являются многотоннажными.

Важным критерием опасности химического фактора является *способность вещества к распространению в окружающей среде*, и здесь ведущее место занимают тяжелые металлы, в первую очередь свинец и ртуть. Судя по последним документам Международной программы по химической безопасности (МПХБ) и МФХБ, ртуть будет в ближайшие годы привлекать к себе наибольшее внимание как в исследовательском, так и в организационном плане.

Серьезное значение придается *стойким органическим загрязнителям*, абсолютное большинство которых является пестицидами. Особое место среди стойких органических загрязнителей занимают полихлорированные дифенилы (бифенилы), диоксины и фураны. Хотя в оценке их реальной опасности остается ещё много неопределенностей, для решения задачи охраны окружающей среды от воздействия этих чрезвычайно опасных токсикантов выделяются значительные средства.

Среди разнообразных форм антропогенного воздействия на экологическую структуру Земли и на самого человека *особо следует выделить химический фактор.* Его антропогенная составляющая давно опередила естественную. Иначе говоря, поступление в среду обитания химических загрязнителей техногенного происхождения все более превосходит их поступление из естественных источников, сравнительно незначительных по интенсивности или локальных в пространстве и времени. Среди последних наиболее значима вулканическая деятельность.

Глава 4

ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

4.1. ОРГАНИЧЕСКИЕ ЗАГРЯЗНЯЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

В связи с тем, что однозначно доказано негативное влияние многих органических, неорганических и металлоорганических веществ в воздухе, воде, донных отложениях, почвах, растениях, животных и людях на окружающую среду и здоровье населения, эти экотоксикологические (на биоту) и токсикологические (на людей) эффекты стали (по крайней мере в развитых странах) важными факторами в рамках национальных стратегий безопасности.

Например, в Японии Министерство окружающей среды, обеспокоенное проблемами химического загрязнения, начиная с 1974 г. проводит систематический мониторинг истинного уровня загрязнения окружающей среды токсичными веществами, в частности *стойкими органическими загрязнителями* (СОЗ).

В некоторых европейских странах и Северной Америке (Канада и США) за последние тридцать лет значительные усилия прилагались для того, чтобы предотвратить дальнейшее загрязнение окружающей среды *стойкими токсичными веществами* (СТВ), включая органические, а в самое последнее время и металлоорганические загрязнители, главным образом органические производные ртути, олова и свинца.

Кроме того, принято выделять *органические суперэкотоксиканты* (СЭТ) – вещества, находящиеся в окружающей среде в следовых количествах, но способные вызвать катастрофические изменения в функционировании биоты, в том числе здоровье человека. Среди СЭТ наибольшую опасность имеют полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), полихлорированные бифенилы (ПХБ), диоксиноподобные вещества, фталаты и др.

Обеспечение экологической безопасности природы и человечества невозможно без решения, как минимум, трех взаимосвязанных задач:

- во-первых, организации аналитического контроля за содержанием СЭТ в природных объектах на уровне ультрамикроконцентраций (от 0,1 мкг/л до 1 пг/л и ниже);
- во-вторых, разработки и оптимизации экобезопасных технологических процессов утилизации суперэкотоксикантов, требующих знания комплекса их фундаментальных термодинамических характеристик (теплоемкости, энтальпии, энтропии, функции Гиббса) в широком интервале температур;
- в-третьих, экотоксикологического сопровождения и контроля (включая биотестирование) всех этапов обращения с СЭТ их дериватами и промежуточными продуктами.

Входящие в ООН страны-инициаторы запрета СОЗ выбрали 12 химических соединений (так называемая «*грязная дюжина*»), производство и использование которых необходимо запретить, а имеющиеся запасы уничтожить (табл. 4.1–4.2).

Таблица 4.1

Основные типы стойких органических загрязнителей, их источники и обусловленные ими стрессы (Петросян, 2005)

Типы	Источники	Химические стрессы
Альдрин, атразин, гептахлор, ДДТ, дильдрин, линдан, мирекс, токсафен, хлордан, хлордекон, эндосульфан, эндрин	Хлорорганические и другие пестицидные препараты	Биоаккумуляция в жировых тканях организма и трофических цепях, поражения центральной нервной и эндокринной систем, канцерогенез
Гексабромбифенил (ГББ)	Антивоспламенитель для термопластиков	Болезни кожи, выпадение волос, канцерогенез, эндокринные нарушения
Гексахлорбензол (ГХБ)	Дымовые завесы, фейерверки	Болезни печени, канцерогенез
Нонил- и октилфенолы	Синтез детергентов, пластификаторов и стабилизаторов резины	Разрушение эндокринной системы у животных и человека.
Пентахлорфенолы (ПХБ)	Добавки в краски, текстиль, пестициды для защиты древесины	Токсичность по отношению к водной биоте и человеку
Полибромированные дифениловые эфиры (ПБДЭ)	Антивоспламенители для полиуретановых пен в коврах, матрацах и мебели	Канцерогенез, эндокринные нарушения и препятствие развитию мозга
Полихлорированные бифенилы (ПХБ)	Трансформаторные и смазочные масла, пластификаторы	Поражение эндокринных систем и проявление канцерогенеза
Полихлорированные диобензодиоксины (ПХДД) и дибензофураны (ПХДФ)	Микропримеси в ПХБ, хлорфенолах, пестицидах, продуктах сгорания ПВХ и отбеленной целлюлозе	Супертоксичность, проявление тератогенеза и канцерогенеза, поражение кожи (хлоракне), эндокринной, иммунной и репродуктивной систем
Полиядерные ароматические углеводороды (ПАУ)	Неполное сгорание древесины, угля и нефтепродуктов	Связывание метаболитами клеточной ДНК, возникновение раковых опухолей
Фталаты	Пластификаторы, репелленты, растворители	Разрушение эндокринной системы человека, поражение печени и легких животных

Таблица 4.2

Основные типы металлоорганических экотоксикантов, их источники и обусловленные ими стрессы (Петросян, 2005)

Металлоорганические экотоксиканты		Химические стрессы
типы	источники	
Метильные производные ртути	Метилирование катионов ртути (образуются в окружающей среде)	Разрушение центральной нервной системы, мозга и печени
Производные трибутил- и трифенилолова	Краски для судов и подводных конструкций, катализаторы, стабилизаторы ПВХ	Половые превращения моллюсков и рыб (импосекс). Разрушение мозга человека и животных триметильными и триэтильными производными олова
Алкильные производные свинца	Антивзрывные добавки к топливу автомобилей	Онкологические заболевания дыхательного и пищеварительного трактов

Принято считать, что наибольшую опасность представляют полихлорированные дибензо-n-диоксины и дибензофураны, а также полихлорированные дифенилы (бифенилы). Характеристика опасности некоторых загрязнителей представлена в табл. 4.3.

Таблица 4.3

Параметры опасности полихлорированных дибензодиоксинов, дибензофуранов и дифенилов (Худолей, 2000)

Параметры опасности	Особенности действия
Высокая токсичность	Суперэкотоксиканты, являющиеся клеточными ядами, поражающими все живое
Повсеместность распространения в окружающей среде	Присутствуют во всех составляющих биосферы – в воде, воздухе, почве, пищевых продуктах
Устойчивость к разложению	Чрезвычайно стабильны и существуют (персистируют) в среде десятки и сотни лет
Миграция	Способны с водными и воздушными массами, а также с биотой перемещаться на большие расстояния (трансграничный перенос)
Биоаккумуляция	Включаясь в пищевые цепи, попадают в организм человека, где накапливаются и вызывают различные тяжелые заболевания

Это первоочередной, но не окончательный список. Предполагается его значительное расширение, что предусматривается Стокгольмской конвенцией 2001 г. и вытекает из определения, данного в «Протоколе ООН по стойким органическим загрязнителям...» (1998 г.): *«СОЗ представляют собой органические вещества, которые обладают токсическими свойствами, являются стойкими, биологически аккумулируются, предрасположены к трансграничному переносу на большие расстояния и осаждению, могут вызывать значительные негативные последствия для здоровья человека и/или окружающей среды вблизи и вдали от их источников».*

Указанные свойства характерны и для остальных стойких органических загрязнителей, однако их проявление, как правило, менее выражено.

Спектр негативных эффектов воздействия СОЗ на здоровье человека весьма разнообразен: злокачественные новообразования, репродуктивная токсичность (как для мужчин, так и для женщин), уродства плода и новорожденных, кожные поражения, нарушения гормональной и иммунной систем, повреждения центральной и периферической нервной системы и другие изменения.

Уже из этого перечисления видно, что СОЗ являются потенциально опасными агентами. Однако объективный анализ реальной опасности даже избранных 12 соединений еще далек от завершения, и в первую очередь это касается оценки их канцерогенных свойств. На основании изучения уровня убедительности доказательств канцерогенности для человека (эпидемиологические исследования, хронические опыты на животных, вспомогательные данные, полученные в краткосрочных тестах) эксперты Международного агентства изучения рака (МАИР) оценили канцерогенный риск всех 12 приоритетных стойких органических загрязнителей (табл. 4.4).

Таблица 4.4

Оценка канцерогенного риска для человека «грязной дюжины» стойких органических загрязнителей

Токсиканты группы СОЗ	Канцерогеный риск
Полихлорированные дибензол-диоксины, 2, 3, 7, 8-тетрахлордибензо-*n*-диоксин	1
Полихлорированные дибензофураны	3
Полихлорированные дифенилы	2А
ДЦТ	2Б
Хлордан	2Б
Гексахлорбензол	2Б
Гептахлор	2Б
Токсафен	2Б
Мирекс	2Б
Алдрин	3
Диэлдрин	3
Эндрин	3

В группу 3 (неклассифицируемые на основании существующих сегодня данных) отнесены полихлорированные дибензофураны, пестициды алдрин, диэлдрин, эндрин.

Пестициды хлордан, гептахлор, ДЦТ, токсафен, мирекс и гексахлорбензол вошли в группу 2Б (возможные канцерогены для человека), а в группу 2А (весьма вероятные канцерогены) включены полихлорированные дифенилы. К группе 1 (безусловные канцерогены для человека, их в настоящее время насчитывается 87) отнесен лишь 2,3,7,8-тетрахлордибензо-n-диоксин (ТХДД).

При рассмотрении основных типов органических и металлоорганических экотоксикантов (табл. 4.1 и 4.2) необходимо иметь в виду, что негативные эффекты этих токсичных веществ определяются в значительной мере их химической природой (электронное и пространственное строение молекул, наличие в них металлов, связанных с органическими и неорганическими лигандами, количество атомов хлора в различных органических токсикантах и др.). Однако основным фактором, обусловливающим проявление токсическо-

го воздействия, является концентрация экотоксиканта в живом организме (растении, животном, человеке).

Чрезвычайно важно учитывать, что из всей последовательности процессов (поглощение, биотрансформация, детоксикация, выведение и биоаккумуляция) ключевую роль играет последний, определяющий накопление экотоксикантов в организме. При этом необходимо осознавать, что *биоаккумуляция* – накопление токсикантов в организме из всех источников (воды, воздуха, пищи) – отличается от биоконцентрирования, которое представляет собой только накопление токсиканта из воды.

Время полураспада органических загрязнителей в почве различно (табл. 4.5, рис. 4.1), и составляет 10–20 лет, в организме человека не менее нескольких месяцев.

Таблица 4.5

Период полураспада хлорорганических инсектицидов в почве (Лозановская и др., 1998)

Инсектицид	Период полураспада, годы	Инсектицид	Период полураспада, годы
Гептахлор	7–12	Дильдрин	1–7
Изодрин, эндрин	4–8	Хлоран	2–4
Токсафен	10	ГХЦГ	2
Альдрин	1–4		

Рис. 4.1. Время разложения в почве хлорпроизводных углеводородов (Edwarrds, 1973): 1 – альдрин; 2 – гептахлор; 3 – хлордан; 4 – линдан; 5 – индрин; 6 – дильдрин; 7 – ДДТ

Оценка качества растительной продукции, выращенной на загрязненных ПХБ почвах, показала высокое содержание этих соединений в корнеплодах и зелени, а также в молочных продуктах и яйцах кур. В загрязненных районах обнаружены аномально высокие уровни содержания ПХБ в грудном молоке женщин (от 1093 до 2392 мкг/дм^3) и крови мужчин.

При среднесуточном употреблении 0,3 кг картофеля, 0,45 кг других овощей и 0,2 кг фруктов, выращенных на таких участках, человек получает дозу ПХБ (только этими продуктами), равную десятикратной допустимой дозе.

Несмотря на то, что ПХБ длительное время являются загрязнителями окружающей среды, механизм их взаимодействия с почвой изучен недостаточно. В настоящее время нет четкого представления о влиянии свойств почвы (pH, гранулометрический состав, ЕКО, содержание гумуса и его фракционный состав, водно-физические характеристики) на поведение и распределение ПХБ в почвенном профиле.

Из-за высокой устойчивости этих соединений во внешней среде процессы самоочищения почвы идут крайне медленно. Известно, что ПХБ в почве частично подвергаются микробиологической деструкции. Однако этот процесс неуправляем и образующиеся промежуточные соединения (метаболиты) могут оказаться более токсичными, чем исходные вещества.

Известно также, что часть поступающих в почву ПХБ связывается с гуминовыми кислотами, образуя слабо подвижные нерастворимые комплексы. Это приводит, с одной стороны, к значительному уменьшению содержания доступных растениям форм ПХБ, с другой – к консервированию ПХБ в почвах на длительное время с неизвестными последствиями.

Влияние ПХБ на различные свойства почв и об интенсивности микробиологического разрушения ПХБ в зависимости от почвенных условий целесообразно исследовать в комплексе, учитывая санитарно-гигиенические и медико-биологические аспекты данной проблемы. Важное место в исследованиях должно быть отведено разработке методов (включая и химические) безопасного разложения ПХБ в почвах.

4.2. НЕФТЯНОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ

Нефтедобывающая промышленность – одна из самых загрязняющих отраслей народного хозяйства. В соответствии с материалами Международной конвенции об оценке воздействия на окружающую среду (1981) она отнесена к экологически опасным объектам.

Негативное влияние нефтяного загрязнения характеризуется:

– нарушением естественных ландшафтов местности и потерей сельскохозяйственных земель;

– нарушением в загрязненных нефтью почвах важнейших генетических показателей: изменяется естественный морфологический профиль, химические и биологические свойства, формируются плотные битумные коры, непроницаемые для корней растений и микроорганизмов;

- загрязнением воздушного бассейна вследствие испарения углеводородов вокруг нефтепромыслов;
- загрязнением промышленной зоны нефтепромыслов сероводородом, меркаптанами, аммиаком, сернистым ангидридом и другими токсичными веществами, вызывающими у живых организмов серьезные заболевания;

- повышением уровня подземных вод и, как следствие, образованием мелких засоленных озер;
- изменением плотности, уменьшением прозрачности воды, гибелью рыбы, водоплавающих птиц и мелких животных.

Загрязнение почв нефтепродуктами отмечено на территории всех нефтегазовых промыслов и на всех стадиях разработки месторождения, начиная с поискового бурения, строительства нефтегазодобывающих скважин, эксплуатации и транспортировки сырья и кончая условиями их хранения.

Нефтяное загрязнение отличается от других антропогенных воздействий тем, что оно дает не постоянную, а «залповую» нагрузку на среду, вызывая быструю ответную реакцию. Пропитывая профиль почвы, нефтяные загрязнители изменяют ее химические и физические параметры, нарушают водно-воздушный, солевой режим и углеродно-азотный баланс, обогащают химическими токсикантами.

Максимальная аккумуляция нефтяных компонентов в верховых торфяных почвах происходит на глубине 0–15 см одновременно со значительным возрастанием общего содержания органического углерода с 40,1 до 85,6% и н-гексановой фракции с 0,6 до 28,9%.

Происходит резкое снижение спектральных коэффициентов отражения в нефтезагрязненных пробах с 26,0 до 12,0%, что обусловлено обволакиванием частиц торфа нефтяной пленкой, вследствие чего изменяются спектральные характеристики исследуемых почв.

Показано, что нефтяное загрязнение дерново-подзолистых почв Тюменской области отрицательно влияет на микробиоценозы почв, приводя к снижению численности, перегруппировке состава, снижению активности микробиологических процессов, увеличению численности углеводородоокисляющих бактерий. Это влияние усиливается при переходе от слабого к среднему и сильному нефтяному загрязнению (Наплекова, 2004).

Результаты исследований показали, что разная степень нефтяного загрязнения почв оказывает различное влияние на численность и активность разных групп микроорганизмов в почве.

Слабое нефтяное загрязнение (2%) снижает численность микроорганизмов в почве, особенно усваивающих минеральный азот, олиготрофов и аэробных азотфиксаторов (азотобактера и олигонитрофилов). Наиболее чувствительны к нефтяному загрязнению актиномицеты. Их численность по сравнению с контролем уменьшилась в 7 раз. Микроскопические грибы и фосфатмобилизующие микроорганизмы реагировали незначительно.

Среднее (6%) и *сильное* (16%) *загрязнения* особенно угнетают группу микроорганизмов, усваивающих минеральные формы азота. Что касается аэробных азотфиксаторов (азотобактера и олигонитрофилов), то их численность увеличилась.

Определение численности углеводородоокисляющих микроорганизмов показало нарастание их численности на один-два порядка при переходе от незагрязненной почвы к слабо-, средне- и сильнонефтезагрязненной почве. В этой группе выделено 58 культур микроорганизмов, преимущественно гри-

бов, дрожжей, бацилл и бактерий. Среди грибов доминировали виды *Penicillium meleagrinum, Chaetomium globosum, Aspergillus tereus, Dematium pullulans* и *Mycogone nigra.*

Судя по скорости процесса аммонификации, нефтяное загрязнение сказывается негативно на биологической активности почвы, что приводит к ухудшению минерального питания растений. Интенсивность разложения белков желатина снизилась с 90% в контроле до 10–5% в средне- и сильнонефтезагрязненных почвах.

Целлюлолитическая активность почв снижалась закономерно от контроля к слабо-, средне- и сильнозагрязненной нефтью почве в 3, 5, 12 раз соответственно.

Менялся и состав целлюлозоразрушающих микроорганизмов. В контроле и слабозагрязненной почве доминировали миксобактерии, в средне- и сильнозагрязненной нефтью почве преобладали микроскопические грибы.

Численность основных групп гетеротрофных бактерий составляет 58–68%, спорообразующих микроорганизмов – 68% от численности микроорганизмов на контрольных участках, что объясняется токсичным действием нефтепродуктов на жизнедеятельность микроорганизмов. Исследованиями установлено, что в прикорневой зоне (ризосфере) растений клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) и костреца безостого (*Bromopsis inermis* (Leys), произрастающих на нефтезагрязненной суглинистой дерново-подзолистой почве Пермского Предуралья, происходит резкое увеличение численности сапротрофных несимбиотических микроорганизмов (табл. 4.6).

Наибольшее количество грибов наблюдается в ризосфере и ризоплане клевера лугового; как правило, их численность на порядок больше, чем в корневой зоне костреца безостого. При этом у обоих растений численность микромицетов в ризоплане выше, чем в ризосфере.

С ростом дозы внесенной нефти повышается доля сапротрофных грибов как в прикорневой зоне, так и в эдафосфере, однако в ризосфере и ризоплане опытных растений этот рост был в большинстве случаев более значителен. При этом если в ризосфере и ризоплане растений, выросших на чистой почве, сапрофитные микромицеты составляли десятые доли процента от общей численности микроорганизмов, то с повышением концентрации загрязнения в почве их доля повышалась. При 20%-ном и 30%-ном загрязнениях доля сапротрофных грибов составляла до нескольких десятков процентов от общей численности микроорганизмов.

Установлено, что развитие данной группы микроорганизмов в прикорневой зоне растений в условиях нефтяного загрязнения оказывает очень сильный негативный эффект за *счет продукции микотоксинов*.

При оценке последствий нефтяного загрязнения не всегда можно однозначно судить о возможности возврата экосистем к их устойчивому состоянию. Процесс самовосстановления загрязненной среды нефтепродуктами, по мнению большинства исследователей, идет более 10–25 лет.

Таблица 4.6

Численность сапрофитных грибов в ризосфере и эдафосфере при нефтяном загрязнении (Иларионов и др., 2003)

Вариант	Численность, КОЕ/г		Ризосферный эффект		Доля микромицетов, %	
	I	II	I	II	I	II
Почва без загрязнения						
Кострец безостый	$1{,}9\cdot10^5$	$3{,}2\cdot10^5$	1,7	2,9	0,2	0,3
Клевер луговой	$4{,}5\cdot10^5$	$7{,}2\cdot10^5$	4,1	6,5	0,2	0,2
Почва без корней	$1{,}1\times10^5$				1,0	
Почва с 1%-ным загрязнением						
Кострец безостый	$6{,}7\cdot10^5$	$3{,}2\cdot10^6$	0,7	3,3	0,3	1,0
Клевер луговой	$1{,}0\cdot10^6$	$2{,}0\cdot10^6$	1,0	2,1	0,4	0,4
Почва без корней	$9{,}7\times10^5$				5,1	
Почва с 10%-ным загрязнением						
Кострец безостый	$1{,}4\cdot10^7$	$7{,}7\cdot10^7$	14,0	77,0	1,8	7,9
Клевер луговой	$5{,}9\cdot10^8$	$1{,}1\cdot10^8$	60,8	113,4	10,0	16,9
Почва без корней	$1{,}0\times10^6$				3,1	
Почва с 20%-ным загрязнением						
Кострец безостый	$5{,}9\cdot10^7$	9,8·107	22,6	33,6	6,5	9,8
Клевер луговой	$1{,}1\cdot10^8$	4,5·108	42,3	173,1	10,0	32,1
Почва без корней	$2{,}6\times10^b$				2,6	
Почва с 30%-ным загрязнением						
Кострец безостый	$1{,}4\cdot10^8$	$3{,}2\cdot10^8$	10,0	22,9	12,7	22,9
Клевер луговой	$9{,}7\cdot10^8$	$1{,}4\cdot10^9$	69,2	100,0	69,3	31,1
Почва без корней	$1{,}4\cdot10^7$				12,9	

Примечание: I – ризосфера; II – ризоплан; ризосферный эффект – соотношение между количеством микроорганизмов в ризосфере и почве без растений (Красильников, 1958; Кожевин, 1989).

Особую опасность представляют нефтяные загрязнения водных акваторий. Печальным примером могут служить последствия взрыва нефтяной платформы Deepwater Horizon, произошедшего 20 апреля 2010 года в 80 километрах от побережья штата Луизиана в Мексиканском заливе на месторождении Макондо. Последовавший после аварии разлив нефти стал крупнейшим в истории США и превратил аварию в одну из крупнейших техногенных катастроф по негативному влиянию на экологическую обстановку. В результате разлива нефти было загрязнено 1770 километров побережья, был введён запрет на рыбную ловлю, для промысла были закрыты более трети всей акватории Мексиканского залива. От нефти пострадали все штаты США, имеющие выход к Мексиканскому заливу, сильнее всего пострадали штаты Луизиана, Алабама, Миссисипи и Флорида.

По данным на 25 мая 2010 года, на побережье Мексиканского залива было обнаружено 189 мёртвых морских черепах, птиц и других животных, на тот момент разлив нефти угрожал более 400 видам животных, в том числе китам и дельфинам. Но уже по состоянию на 2 ноября 2010 года было собрано 6814 мёртвых животных, в том числе 6104 птицы, 609 морских черепах, 100 дельфинов и других млекопитающих и одна рептилия другого вида. По данным Управления особо охраняемых ресурсов Национального управления океанических и атмосферных управлений, в 2010–2011 годы зафиксировано повышение смертности китообразных на севере Мексиканского залива в несколько раз по сравнению с предыдущими годами (2002–2009). На март 2012 года, расходы Британской нефтегазовой компании (British Petroleum, BP) составили около 22 миллиардов долларов, в том числе 8,1 миллиарда долларов были выплачены частным лицам, компаниям и госучреждениям и около 14 миллиардов направлено на мероприятия оперативного реагирования. Научные сотрудники Университета Теннесси (штат Теннесси, США), утверждают, что бактерии уничтожили значительную часть нефти, разлив которой произошел в результате этой аварии. Глубоководные микроорганизмы, количество которых после разлива «черного золота» значительно увеличилось, использовали нефть, и в какой-то мере газ, для собственного питания. Согласно наблюдениям ученых, после изоляции скважины и прекращения утечки нефти, бактерии занялись поиском других источников пищи. Попытки же нейтрализовать загрязнение со стороны человека, наоборот, принесли в основном негативные результаты. Так, для разложения нефти был применен растворитель Corexit 9500, являющийся ядовитым для большинства представителей морской фауны. Кроме того, вследствие применения этого вещества нефть выпала в осадок на дно Мексиканского залива, где ее не смогли уничтожить бактерии.

4.3. ПРОДУКТЫ РАКЕТНОГО ТОПЛИВА

Освоение космического пространства, связанного с использованием ракетного топлива на основе высокотоксичного соединения несимметричного диметилгидразина (НДМГ), приводит к загрязнению воздуха, воды, почв и живых организмов в ландшафтах. Такое загрязнение происходит при падении отработавших ступеней ракет и при аварийных проливах. Наибольшую опасность представляет падение первых ступеней ракет, использующих в качестве топлива НДМГ и азотный тетраоксид (АТ).

Площадь, отчуждаемая под районы падения отделяющихся частей ракетносителей (РН), запускаемых с космодромов, огромна. Эта площадь составляет от 1500 до 5000 км^2 и может быть расположена от 800 до 2500 км от места старта. В настоящее время на Земле эксплуатируется 12 наиболее активных космодромов, с которых запускаются около 20 наименований ступенчатых ракетносителей. Общая площадь, которая используется космодромами под районы падения, занимает миллионы квадратных километров. Так, например, в России она составляет около 20 млн га, в том числе для космических систем, запускаемых с космодрома Плесецк (район падения Койда) – 267 тыс. га. В Республике Туркменистан – 11,9 тыс. км^2, в Республике Узбекистан – 1,7 тыс. км^2. Пло-

щадь земель, временно отведенных под районы падения отделяющихся частей (ОЧ) РН, на территории Республики Казахстан составляла 46,01 тыс. км^2.

Суммарная площадь районов, расположенных в России, загрязненных высокотоксичными компонентами ракетного топлива, составляет 360 тыс. га.

Таким образом, в районы падения регулярно вносится химическое вещество техногенного происхождения, не характерное для соответствующих экосистем.

Так, по данным экологического паспорта района падения Койда (Сидоров и др., 2007), в период с 1967 г. (начало эксплуатации) по 2001 г. на территорию района приземлилось 257 частей ракет-носителей. Загрязнение компонентами ракетного топлива (КРТ) выявлено на всех местах падения и носит локальный характер, распространяясь на площади от 35 кв. м до 14478 кв. м по НДМГ и от 338 до 1369 кв. м по углеводородному топливу. Максимальные концентрации КРТ и продуктов их трансформации фиксируются в районах падения через 40 мин после приземления и составляют для НДМГ 26640 мг/кг грунта, нитрозодиметиламина (НДМА) – 6,34 мг/кг, для компонентов твердого топлива – свыше 10000 мг/кг. Что касается азотного тетраоксида, содержание нитрат-ионов в пробах грунта, отобранных в разные годы, во всех случаях не превышало ПДК. Исключение составляют «свежие» места падения – в течение 1 года. Загрязнение грунтовых вод НДМГ отмечено в 80% на местах падения ракеты-носителя «Циклон».

НДМГ, относящийся к группе канцерогенных и мутагенных веществ первого класса опасности, представляет реальную угрозу для окружающей среды и человека. Эти соединения могут длительное время сохраняться и накапливаться в объектах окружающей среды. Временный предельно допустимый уровень (ПДУ) НДМГ в почве составляет 0,1 мг/кг.

В соответствие с ГОСТ 12.1.006-76 НДМГ по значениям среднесмертельной дозы ($ДЛ_{50}$) и коэффициенту возможности ингаляционного отравления (КВИО)[5] относится к веществам 1 класса опасности – чрезвычайно опасные вещества.

Азотосодержащее ракетное топливо является слабым основанием и активным восстановителем, легко окисляется. Его поведение в ландшафтах определяют высокая испаряемость, окисляемость кислородом воздуха, хорошая растворимость в воде, высокая сорбционная способность. Обладая большой устойчивостью в почве и растениях, это соединение хорошо мигрирует в профиле почвы. Глубина проникновения зависит от содержания в ней органического вещества и прочной связь с органоминеральным комплексом почвы. Установлено, что чем выше катионообменная емкость почвы, тем больше степень поглощения. Глинистые почвы сорбируют 76–90% НДМГ, песок лишь 2–46%.

Снижение концентрации вещества в почве во времени происходит неравномерно: наиболее резко уменьшается его содержание в первые пять дней, что указывает как на прочное поглощение его элементами почвы, так и на наличие процессов разложения токсиканта на продукты окисления, концентрация которых в первые сутки после начала опытов увеличивается в 2 раза.

---

[5] О параметрах токсикометрии подробнее см. главы 6 и 9.

При периодическом поступлении на поверхность почвы опасность загрязнения подземных грунтовых вод и растительности зависит от величины десорбции: из глин вымывается около 2,7% НДМГ, из песка – около 30%.

Наряду с поглощением и окислением топливо испаряется с поверхности почвы. При попадании 1000 мг/кг НДМГ с поверхности испаряется лишь 0,3% за сутки, что указывает на его прочную почвенную фиксацию.

Условия для сохранности и миграции загрязнителя различаются по сезонам года. Наиболее благоприятен для стабильности его в экосистемах зимний период, а для миграции – период весеннего снеготаяния и половодья.

Топливо консервируется в снежном покрове, и во время снеготаяния мигрирует вместе с талыми водами. Наименее благоприятен для миграции его в природной среде теплый сезон. Высокие температуры, дефицит осадков, обилие УФ-радиации способствуют быстрому разложению топлива.

Загрязнение территорий НДМГ атмосферным переносом возможно на расстоянии многих десятков километров от места падения ступеней ракет. В загрязненных экосистемах растения могут поглощать НДМГ и продукты его деструкции из почвы корнями и надземными органами непосредственно из атмосферы.

Следует отметить, что окисление и деструкция НДМГ сопровождаются образованием весьма токсичных соединений, в их числе нитрозодиметиламин (НДМА), диметиламин, тетраметилтетразен, диметилметиленгидразин, формалин, а также амины, аммиак, этан, этилен, водород, азот и другие соединения.

Окисление НДМГ кислородом воздуха приводит к образованию диметиламина (2-й класс опасности). Реакция протекает по уравнению:

$$(CH_3)_2N\text{-}NH_2 + O_2 \rightarrow (CH_3)_2NH + HNO_2.$$

Продукты реакции могут взаимодействовать между собой с образованием нитрозодиметиламина (1-й класс опасности):

$$(CH_3)_2N + HNO_2 \rightarrow (CH_3)_2N\text{-}N{=}O + H_2O.$$

При взаимодействии с кислородом воздуха также возможно образование тетраметилтетразена (2-й класс опасности):

$$2(CH_3)_2N\text{-}NH_2 + O_2 \rightarrow (CH_3)_2N\text{-}N{=}N\text{-}N(CH_3)_2 + 2H_2O$$

и формальдегида (3-й класс опасности):

$$(CH_3)_2N\text{-}NH_2 + 1/2O_2 \rightarrow CH_3NH\text{-}NH_2 + HCOH \text{ и т.д.}$$

Большинство из этих соединений обладает канцерогенными и мутагенными свойствами, создавая угрозу для здоровья людей и животных.

Установлено, что на сопредельных с районом падений ракет территориях Омской и Новосибирской областей России и Павлодарской области Казахста-

на, загрязнение гумусовых горизонтов почв пространственно тяготеет к замкнутым озерным котловинам и вершинам грив. Накопление происходит в гумусовых горизонтах луговых осолоделых черноземов. С поверхностными дождевыми и талыми щелочными водами загрязнитель, переходя в подвижную форму, мигрирует в местные депрессии – межгривные понижения и озерные котловины. Встретив на своем пути восстановительную глеевую и сероводородную среду, накапливается в соровых солончаках и донных отложениях озер. Уровни накопления его донными осадками находятся в пределах 0,02–0,12 мг/кг.

В Алтае-Саянской горной стране продукты распада аккумулируются в высокогорных котловинах, днищах реликтовых долин, котловинообразных понижениях поверхностей выравнивания и криогенно-мерзлотных комплексах межгорных котловин горно-лесного пояса. Таким образом, подчиненные позиции в ландшафтно-геохимических катенах районов падений создаются благоприятные условия для накопления токсиканта.

Исследование почв, проведенное в районах падения первых ступеней ракеты «Протон», показало, что в местах приземления обломков ракет происходит значительное загрязнение 1,1-ДМГ. Уровни загрязнения 1,1-ДМГ в почвах ключевых участков изменяются в пределах от 1 до 1000 ПДК, равного для 1,1-ДМГ в почве 0,1 мг/кг.

С повышением уровня загрязнения почв НДМГ усиливались процессы денитрификации, подавлялись автотрофная нитрификация и деятельность микроорганизмов, менее приспособленных к изменившимся условиям среды (грибы, актиномицеты, аэробные целлюлозоразлагающие бактерии). По мере уменьшения содержания легкодоступных азотсодержащих соединений наблюдалось увеличение численности микроорганизмов, способных осуществлять минерализацию высокомолекулярных органических соединений.

Степень устойчивости НДМГ, находящегося в почве, различна.

Причиной этого является образование прочных связей между молекулами НДМГ и органическим веществом почвы.

При исследовании скорости и степени деградации НДМГ в образцах суглинистых почв, отобранных во время экспедиции в районах падения ракетносителей «Протон», установлено, что уменьшение концентрации НДМГ зависит от начального уровня загрязнения образцов. В образце с наименьшим содержанием НДМГ (0,4 мг/кг) полная деградация загрязнителя происходит на 44-е сутки, для образцов 2 (140 мг/кг) и 3 (765 мг/кг) полного разложения НДМГ не наблюдается даже на 90-е сутки.

При введении гуминовых кислот в загрязненную почву значительного изменения скорости разложения НДМГ не отмечено. По-видимому, это обусловлено взаимодействием гуминовых кислот с органическим и неорганическим веществом почвы с образованием устойчивых комплексов, что препятствует связыванию молекул НДМГ.

По данным анализа свойств и режимов, контролирующих процессы трансформации, накопления и выноса вещества в почвах, разработаны критерии устойчивости НДМГ для Горного Алтая которые могут быть использованы для разных природно-климатических зон.

По степени устойчивости НДМГ в почвах ландшафты Горного Алтая могут быть подразделены на три основные группы: с высокой, средней и слабой устойчивостью.

К группе с ***высокой степенью устойчивости*** НДМГ в первую очередь отнесены почвы нивально-гляциальной зоны с ледниками, фирновыми полями, вечными снегами, которые способствуют длительной консервации и сохранности. Сильные ветры расширяют ореолы загрязнения за счет переноса законсервированного загрязнителя со снежными массами.

Природные условия горно-тундрового и горно-лугового поясов также благоприятны для высокой устойчивости НДМГ в почвах. Низкие температуры почвогрунтов, наличие мерзлоты, слабая аэрация, оглеение, переувлажнение, кислая реакция среды, высокая емкость поглощения объединяют горно-тундровые гидроморфные, горно-луговые оглеенные и болотные почвы в группу с наиболее высокой степенью устойчивости НДМГ и низкой интенсивностью его миграции. К этой же группе могут быть отнесены гидро- и полугидроморфные почвы, распространенные в долинах крупных рек. Меньшая степень устойчивости характерна для горно-тундровых автоморфных и горно-луговых почв, распространенных на хорошо дренированных участках и обладающих высокой воздухоемкостью.

Учитывая, что разложение органического материала в условиях Горного Алтая может происходить в период 20–30 лет, а в верховых сфагновых торфяниках и более 100 лет, можно ожидать сохранение загрязнителя, попавшего в почвы с высокой степенью устойчивости, на протяжении десятков лет.

Почвы горно-лесного пояса отнесены к группе ***средней устойчивости*** загрязнителя. Серые лесные, темно-серые лесные, горно-лесные дерново-глубокоподзолистые, бурые лесные почвы горно-лесного пояса характеризуются высокой гумусированностью и кислой (слабокислой) реакцией среды в поверхностных горизонтах, неблагоприятной для миграции. Кроме того, почвы горно-лесного пояса имеют хорошо дифференцированный профиль по элювиально-иллювиальному типу, что позволяет предположить осаждение загрязнителя, мигрирующего вместе с гумусовым веществом, в оглиненном горизонте. Накопление также может происходить в оглеенных горизонтах горно-лесных серых и горно-лесных дерново-глубокоподзолистых почв. От почв с высокой степенью устойчивости их отличает интенсивный промывной режим, способствующий окислению и выносу загрязнителя.

Высокая гумусированность, играющая большую роль в степени устойчивости НДМГ в почвах, характерна и для горно-лесных черноземовидных почв, выщелоченных, оподзоленных и обыкновенных черноземов горных и предгорных лесо-лугово-степных ландшафтов межгорных долин низкогорий и высоких предгорий. Накопление может происходить в гумусовых и иллювиальных горизонтах рассматриваемых почв. Эту группу почв можно также отнести к почвам со средней степенью устойчивости, но более высокие pH увеличивают подвижность НДМГ.

Низкая устойчивость НДМГ и его высокая подвижность свойственны горным и предгорным степям, сухо-степным и пустынно-степным ландшафтам. В Центральном Алтае южные черноземы и каштановые почвы занимают

склоны южной экспозиции, речные террасы и межгорные котловины. В засушливых котловинах на высоте 1400–2000 м распространены полупустынные ландшафты на каштановых и бурых почвах.

Эти почвы по окислительно-восстановительным и щелочно-кислотным условиям представляют собой арену окисления и миграции НДМГ с поверхностным и внутрипочвенным стоком. Слабое накопление может происходить лишь в гумусовых горизонтах почв.

Есть все основания рассматривать высшие растения совместно с сопутствующей биотой как эффективный биогенный природный фактор в решении проблемы биоремедиации химически загрязненных территорий. Очевидно, что для более эффективной фитодетоксикации загрязненных почв перспективно использовать растения из числа местной флоры, наиболее приспособленные к условиям среды обитания и толерантные к действию токсикантов.

4.4. ХИМИЧЕСКОЕ ОРУЖИЕ

Бурное развитие химической промышленности во второй половине XX века явилось материальной основой для реализации идеи применения отравляющих газов. 22 апреля 1915 года с применения газообразного хлора войсками Германии началась эпоха использования современных средств массового уничтожения. В ходе Первой мировой войны было применено около 130 тысяч тонн высокотоксичных соединений примерно 40 наименований. В годы 2-й Мировой войны химическое оружие применяли в крайне ограниченных масштабах. Тем не менее работы по созданию новых образцов ОВ не прекращались. В фашистской Германии, а позже и других странах, были созданы чрезвычайно токсичные фосфорорганические отравляющие вещества (ФОВ). В 1968 году Комитетом по разоружению (с 1984 г. – Конференция по разоружению), в состав которого входило 18 государств, началось Международное обсуждение вопроса о запрещении химического и биологического оружия, которое завершилось принятием Конвенции о запрещении химического оружия, вступившей в силу 29 апреля 1997 г. Контролирующим органом за соблюдением Конвенции является *Организация по запрещению химического оружия (ОЗХО)*, которая уточняет положения Конвенции. Кроме того, организация проводит инспекции военно-промышленных объектов с целью обеспечить выполнение требований странами-участницами.

Основными пунктами Конвенции являются:

- запрещение производства и применения химического оружия;
- ликвидация (или использование в других целях) мощностей по производству химического оружия;
- уничтожение всех запасов химического оружия (включая запасы, находящиеся за пределами территории государства);
- взаимопомощь между государствами и взаимодействие с ОЗХО в случае применения химического оружия;
- инспекции ОЗХО с целью контроля над производством химикатов, из которых может быть изготовлено химическое оружие;

- международное сотрудничество в мирном использовании химикатов в соответствующих областях.

Химическое оружие различают по следующим характеристикам:

1. Характеру физиологического воздействия отравляющих веществ (ОВ) на организм человека.
2. Тактическому назначению.
3. Быстроте наступающего воздействия.
4. Стойкости применяемого ОВ.
5. Средствам и способам применения.

По характеру физиологического воздействия на организм человека выделяют шесть основных типов отравляющих веществ (Куценко и др., 2003), некоторые из них приведены на рис. 4.2:

- Отравляющие вещества нервно-паралитического действия, воздействующие на центральную нервную систему. Целью применения ОВ нервно-паралитического воздействия является быстрый и массовый вывод личного состава из строя с возможно большим числом смертельных исходов. К отравляющим веществам этой группы относятся зарин, зоман, табун и V-газы.
- Отравляющие вещества кожно-нарывного действия. Они наносят поражение главным образом через кожные покровы, а при применении их в виде аэрозолей и паров – также и через органы дыхания. Основные отравляющие вещества – иприт, люизит.
- Отравляющие вещества общеядовитого действия. Попадая в организм, они нарушают передачу кислорода из крови к тканям. Это одни из самых быстродействующих ОВ. К ним относятся синильная кислота и хлорциан.
- ОВ удушающего действия поражают главным образом легкие. Главные ОВ – фосген и дифосген.
- ОВ психохимического действия способны на некоторое время выводить из строя живую силу противника. Эти отравляющие вещества, воздействуя на центральную нервную систему, нарушают нормальную психическую деятельность человека или вызывают такие психические недостатки, как временная слепота, глухота, чувство страха, ограничение двигательных функций. Отравление этими веществами в дозах, вызывающих нарушения психики, не приводит к смерти. ОВ из этой группы – хинуклидил-3-бензилат (BZ) и диэтиламид лизергиновой кислоты.
- Отравляющие вещества раздражающего действия, или ирританты (от англ. Irritant – раздражающее вещество). Раздражающие вещества относятся к быстродействующим. В то же время их действие, как правило, кратковременно, поскольку после выхода из зараженной зоны признаки отравления проходят через 1–10 мин. Смертельное действие для ирритантов возможно только при поступлении в организм доз, в десятки-сотни раз превышающих минимально и оптимально действующие дозы. К раздражающим ОВ относят слезоточивые вещества, вызывающие обильное слезотечение и чихательные, раздражающие дыхательные пути (могут также воздействовать на нервную систему и вызывать поражения кожи). Слезоточивые вещества (лакриматоры) – CS, CN, или хлорацетофенон и PS, или хлорпикрин. Чихательные вещества (стерниты) – DM (адамсит), DA (дифенилхлорарсин) и DC (дифенилцианарсин). Существуют

ОВ, совмещающие слезоточивое и чихательное действия. Раздражающие ОВ состоят на вооружении полиции во многих странах и поэтому классифицируются как полицейские, либо специальные средства несмертельного действия (спецсредства).

Рис. 4.2. Примеры боевых отравляющих веществ

В России, к 90-м годам прошлого века, запасы химического оружия считались одними из самых больших в мире. Основная часть химоружия была представлена: люизитом, ипритом, смесью люизита-иприта (HL), зарином, заманом, VR (советский ви-газ, русский ви-экс, отечественный аналог Vx).

В декабре 1997 года Россия стала участником Конвенции о запрещении химического оружия, задекларировав 40 тыс. тонн отравляющих веществ. В марте 1996 года была принята федеральная целевая программа «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации» (с последними изменениями от 27 декабря 2012 года). В соответствии с этим документом, уничтожение российских запасов химоружия началось в декабре 2002 года. Обращение с химическим оружием регламентируется соответствующими документами и установленными нормативами (табл. 4.7–4.8).

В настоящее время в России химическое оружие хранится и уничтожается в следующих пунктах:

- с. Покровка Безенчукского района Самарской области (г. Чапаевск-11) (завод по уничтожению смонтирован военными строителями одним из первых, в 1989 г., но до настоящего времени законсервирован);
- п. Горный (Саратовская область) (закончил переработку в 2008 г.);
- г. Камбарка (Удмуртская Республика) (закончил переработку в 2009 г.);
- п. Кизнер (Удмуртская Республика) (введен в действие с 2013 г.);
- г. Щучье (Курганская область) (введен в действие с 2009 г.);
- п. Марадыково (объект «Марадыковский», Кировская область) (введен в действие с 2006 г.);
- п. Леонидовка (Пензенская область) (введен в действие с 2008 г.);
- г. Почеп (Брянская область) (введен в действие с 2010 г.).

Таблица 4.7

Санитарно-гигиенические нормативы содержания отравляющих веществ в различных средах

Название вещества	ОБУВ атмосферного воздуха населенных мест и ЗЗМ (мг/м^3) ГН 2.1.6	ПДК воздуха рабочей зоны (мг/м^3) ГН 2.2.5	ПДК атмосферного воздуха (мг/м^3) ГН 2.1.6	ПДК воды водоёмов (мг/дм^3) ГН 2.1.5	ПДК почвы (мг/кг) ГН 2.1.7	ПДУ загрязнения технологического оборудования (мг/дм^2) ГН 2.5.5	ПДУ загрязнения СИЗ (мг/дм^2) ГН 2.5.5	ПДУ загрязнения кожи работающих (мг/см^2) ГН 2.5.5
Иприт	$2{,}0\cdot10^{-6}$	$2{,}0\cdot10^{-4}$	–	$2{,}0\cdot10^{-4}$	0,05	$2\cdot10^{-4}$	–	$7{,}0\cdot10^{-5}$
Люизит	$4{,}0\cdot10^{-6}$	$2{,}0\cdot10^{-4}$	$4{,}0\cdot10^{-6}$	$2{,}0\cdot10^{-4}$	0,1	$5{,}0\cdot10^{-3}$	-	$3{,}0\cdot10^{-5}$
Зарин	$2{,}0\cdot10^{-7}$	$2{,}0\cdot10^{-5}$	Отс.	$5{,}0\cdot10^{-5}$	$2{,}0\cdot10^{-4}$	$1{,}0\cdot10^{-5}$	$1{,}0\cdot10^{-6}$	$1{,}0\cdot10^{-6}$
Зоман		$1{,}0\cdot10^{-5}$	$5{,}0\cdot10^{-7}$	$5{,}0\cdot10^{-6}$	$1{,}0\cdot10^{-4}$	$1{,}0\cdot10^{-6}$	$1{,}0\cdot10^{-7}$	$1{,}0\times10^{-7}$
Vx	$5{,}0\cdot10^{-8}$	$5{,}0\cdot10^{-6}$	Отс.	$2{,}0\cdot10^{-6}$	$5{,}0\cdot10^{-5}$ (ОДК)	$2{,}0\cdot10^{-6}$	$3{,}0\cdot10^{-8}$	$3{,}0\cdot10^{-8}$
Ипритно-люизитин. смеси	$2{,}0\cdot10^{-6}$ (по HD) $4{,}0\cdot10^{-6}$ (по L)	$2{,}0\cdot10^{-4}$	–	$1{,}0\cdot10^{-4}$	$1{,}0\cdot10^{-2}$	$2\cdot10^{-4}$	–	–
Мышьяк	ПДК ср. сут. $3{,}0\cdot10^{-4}$	0,04/0,01 неорг. соед. (As более 40%)	–	0,01	2,0	В т.ч. поверхности стен	–	–

Таблица 4.8

Аварийные пределы воздействия отравляющих веществ

Вещество	Атмосферный воздух, (мг/м^3) ГН 2.1.6.1181-02				Воздух рабочей зоны, (мг/м^3) ГН 2.2.5			
	1 час	4 часа	8 часов	24 часа	30 мин.	1 час	2 часа	4 часа
Иприт	$6{,}0\cdot10^{-3}$	$1{,}3\cdot10^{-3}$	$5{,}0\cdot10^{-4}$	$2{,}0\cdot10^{-4}$	–	–	–	–
Люизит	$1{,}0\cdot10^{-2}$	$2{,}4\cdot10^{-3}$	$1{,}2\cdot10^{-3}$	$4{,}0\cdot10^{-4}$	–	$1{,}4\cdot10^{-1}$ (51-04)	$4{,}0\cdot10^{-2}$ (51-04)	–
Зарин	$8{,}0\cdot10^{-4}$	$2{,}0\cdot10^{-4}$	$1{,}0\cdot10^{-4}$	$3{,}3\cdot10^{-5}$	$1{,}3\cdot10^{-1}$	$6{,}7\cdot10^{-3}$	$3{,}4\cdot10^{-2}$	$1{,}6\cdot10^{-2}$
					ГН 2.2.5.2389-08			
Зоман	$1{,}2\cdot10^{-5}$	$3{,}0\cdot10^{-5}$	$1{,}5\cdot10^{-5}$	$5{,}0\cdot10^{-6}$	$9{,}6\cdot10^{-3}$	$4{,}7\cdot10^{-3}$	$3{,}3\cdot10^{-3}$	$1{,}5\cdot10^{-3}$
					ГН 2.2.5.2388-08			
Vx	$1{,}6\cdot10^{-5}$	$4{,}1\cdot10^{-6}$	$2{,}0\cdot10^{-6}$	$6{,}6\cdot10^{-7}$	$3{,}0\cdot10^{-4}$	$1{,}5\cdot10^{-4}$	$7{,}5\cdot10^{-5}$	$3{,}5\cdot10^{-5}$
					2220-07 пост. №32 от 5.06.07 г.			

В июне 2011 года Россия продлила срок своих обязательств до 31 декабря 2015 года. Уничтожение запасов этого вида оружия в России ведется в четыре этапа. Первый этап был завершен 29 апреля 2003 года, объем ликвидированных боеприпасов составил 400 тонн. Второй этап закончился к апрелю 2007 года, объем – 8 тыс. тонн. Третий – с расчетным объемом 18 тыс. тонн, или 45% всей национальной программы утилизации – завершился на месяц раньше запланированного срока – 25 ноября 2009 года. По состоянию на 1 сентября 2010 г. в России уничтожено 19336 тонн или 48,4% имеющихся запасов. По состоянию на 25 ноября 2012 года уничтожено 70% объявленных Россией запасов химического оружия. 16 июня 2013 года завершился срок действия программы Нанна – Лугара (Программа совместного уменьшения угрозы), в рамках которой США финансировало часть работ по уничтожению химического оружия. На август 2013 г. уничтожено 76% ОВ.

На объектах Камбарка и Горный запасы химоружия уже уничтожены. В настоящее время идет четвертый этап реализации программы, связанный с введением в эксплуатацию последнего, седьмого объекта по уничтожению химического оружия в пос. Кизнер Удмуртской Республики. На нем планируется уничтожать 3,5 тыс. тонн отравляющих веществ в год. После завершения программы химразоружения все объекты по уничтожению будут разобраны, строительные материалы пройдут термическую обработку, а земля на территории будет рекультивирована вне зависимости от того, был ли контакт с отравляющими веществами. Далее предприятия планируется перепрофилировать.

Важную роль в уничтожении химического оружия имеет международное сотрудничество. Так, в начале 2000-х годов США, Великобритания, Германия, Нидерланды, Италия и Канада выделили на российскую программу утилизации $1 млрд. (финансирование продолжалось до 2009 г.). Другой актуальный пример – межгосударственные усилия по уничтожению химоружия в Сирии в 2013–2014 гг. По официальному заявлению ОЗХО представители организации четко распределили обязанности между странами – участницами процесса ликвидации химоружия. Так, Сирийское правительство несет ответственность за сбор и отправку в г. Латакию (крупнейший порт страны) всего объема химического оружия. Далее оружие погружается на датские и норвежские суда и переправляется под конвоем военных кораблей в один из портов Италии. Там химоружие перегружается на один из кораблей ВМС США, который, в свою очередь, выходит в нейтральные воды, где и начинается процесс уничтожения запрещенного оружия. Кроме военного корабля, США предоставляют экспертам ОЗХО GPS-навигаторы и обеззараживающее оборудование. Россия ответственна за поставку грузовиков, резервуаров и прочего логистического оборудования, а также за обеспечение безопасности при погрузке оружия на суда в г. Латакии. КНР предоставляет камеры для химического обследования и 10 санитарных автомобилей. Финляндия должна обеспечить ОЗХО силами и средствами на случай возникновения чрезвычайной ситуации (имеются в виду эксперты-химики, специальное оборудование и прочее). Согласно плану ос-

новная часть сирийских запасов химического оружия должна быть уничтожена в 2014 г.

В программе уничтожения химического оружия (УХО) как в мире, так и в нашей стране, безопасность ключевое понятие (Капашин и др., 2010). В структуре стоимости объектов по хранению и уничтожению химического оружия в России стоимость безопасности, по разным оценкам, составляет от 60 до 70%. Главная особенность промышленных объектов, на которых происходит уничтожение химоружия – это многоуровневые системы безопасности. Процессы превращения БОВ в обычные вещества контролируется при помощи автоматизированных систем управления технологическими процессами (АСУТП). Автоматические сигнализаторы во всех ответственных зонах технологических линий контролируют наличие ОВ в производственных помещениях. Автоматически производится отбор проб из реакторов и проводится их анализ в специальной лаборатории производственного контроля. Это системы промышленной технологической безопасности. На объектах создана также система производственного экологического мониторинга, осуществляющего экологический контроль на объекте и мониторинг компонентов природной среды в санитарно-защитной зоне и в зоне защитных мероприятий. Система экологического мониторинга окружающей среды в районе расположения объекта УХО должна обеспечивать проведение мониторинга:

- атмосферного воздуха;
- почвы;
- природных вод (поверхностных и подземных);
- донных отложений.

Имеющиеся знания по вопросам трансформации БОВ в природной среде, продуктам их деструкции и трансформации, а также процессам накопления в природной среде, механизмам воздействия малых и сверхмалых доз (концентраций) – ограниченны и находятся в процессе развития. Поэтому в составе системы экологического мониторинга созданы биолаборатории, проводящие прямой анализ токсичности природных объектов. Эти анализы проводятся на простейших, микроорганизмах, не обладающих адаптационными возможностями высших организмов, в частности человека. Таким образом, современное прочтение концепции экологического мониторинга заключается в первичном анализе, проводимом по совокупности универсальных биотестов и биоиндикаторов, позволяющем при обнаружении токсичности анализируемых проб провести их более детальный количественный химический анализ с целью идентификации загрязняющих веществ. Анализ отобранных проб на биообъектах дает возможность оценить качество окружающей среды, что является естественной задачей комплексного экологического мониторинга и магистральным направлением перехода к экологическому нормированию. В настоящее время проводятся интенсивные исследования в сфере расширения числа биотестов с целью получения максимально полной и достоверной информации и качестве исследуемых компонентов природной среды.

Глава 5

ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

5.1. ОБЩАЯ ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Среди загрязняющих веществ по масштабам загрязнения и воздействию на биологические объекты особое место занимают тяжелые металлы (ТМ).

К тяжелым металлам относятся химические элементы, имеющие плотность более 5 г/см^3 или атомную массу более 50 единиц.

Словосочетание «тяжелые металлы» большинством людей сейчас воспринимается как синоним понятия «токсичные металлы». Однако надо иметь в виду, что многие из причисляемых к этой группе элементов жизненно необходимы (эссенциальны) для различных живых организмов.

5.1.1. БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Совершенствование техники химического анализа в сочетании с детальным изучением биохимических процессов позволило установить важную биологическую роль многих элементов, еще совсем недавно причислявшихся к числу ксенобиотиков. Всего в живых организмах к настоящему времени обнаружено 80 элементов. Их биологическая роль определяется положением в Периодической системе, т. е. строением атомов и физико-химическими свойствами. Как известно, в растениях и животных в наибольших количествах содержатся s- и p-элементы первого, второго и третьего периодов. В их числе мы находим почти все элементы-органогены, в сумме составляющие примерно 97% массы организмов: водород, углерод, азот, фосфор и серу, а также жизненно необходимые натрий, магний и хлор. К эссенциальным относятся также некоторые s-элементы четвертого периода (калий и кальций) и p-элемент йод. К ним же по праву причисляют такие тяжелые металлы, как Mn, Ni, Cu, Cr, Co, V и Zn. Все они наряду с железом, кобальтом и молибденом входят в состав биокатализаторов (ферментов) или их активаторов.

Марганец, например, обнаружен в простетических группах ферментов, ответственных за синтез специфических полисахаридов, входящих в состав хрящей. К важнейшим марганецсодержащим ферментам относится пируваткарбоксилаза; марганец входит в состав супероксиддисмутазы, фосфаттрансферазы, ДНК-полимеразы.

Еще более обширен перечень энзимов (около 200), в которые входит *цинк.* Среди них один из наиболее распространенных в органическом мире – карбоангидраза, катализирующая обратимую гидратацию CO_2 и участвующая в тканевом обмене всех органов. К числу цинксодержащих ферментов относятся карбоксипептидаза, а также типичные катализаторы гликолиза (алкоголь-, лактат- и глицеральфосфатдегидрогеназы) и др.

Медь в живых организмах входит в состав белков: у млекопитающих это в основном белок сыворотки крови церулоплазмин, синтезируемый в печени. В числе тканевых ферментов можно назвать также цитохромкиназу. У беспозвоночных медь содержится в дыхательном пигменте гемоцианине.

Относительно недавно начала проясняться биологическая роль *хрома и никеля*. Первый из них участвует в липидном, а также в углеводном обмене: при сахарном диабете содержание хрома в тканях человека понижено. Никель обнаружен в урезах, широко распространенных в растениях и найденных у ряда микроорганизмов. Он присутствует в составе ферментов метанового брожения архебактерий (в организме животных никельсодержащие энзимы не выявлены).

Индивидуальная потребность в эссенциальных тяжелых металлах очень невелика (например, в организме взрослого человека общее содержание марганца составляет всего лишь около 8 мг). Между тем многие живые организмы склонны к их бионакоплению и экологической магнификации, а превышение естественных уровней содержания этих элементов часто приводит к тяжелым нарушениям метаболизма, высшей нервной деятельности, развития плода и т. д.

В число экологически значимых тяжелых металлов, кроме перечисленных выше, по решению Европейской экономической комиссии ООН включены *свинец, кадмий, ртуть и сурьма* (а также металлоиды *селен и мышьяк*). Как видно, большинство из них, за исключением непереходных цинка, кадмия, ртути и свинца, относятся к d-элементам. Благодаря наличию вакансий в электронных оболочках d-элементы легче образуют комплексные соединения, в том числе и с биолигандами. В этом свойстве проявляется как их положительная, так и отрицательная физиологическая роль.

5.1.2. ТОКСИЧНОСТЬ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

С одной стороны, эссенциальные металлы из числа d-элементов в составе биомолекул выступают в качестве составляющих эффективных биокатализаторов и участвуют в метаболизме. При этом сходные физико-химические свойства ряда d-элементов (близкие величины ионных радиусов, одинаковые координационные числа) являются причиной некоторого параллелизма их поведения в однотипных процессах. Например, в состав гемоглобина крови почти всех высших животных, выполняющего функцию переносчика кислорода, входит железо, тогда как у некоторых организмов (черви, моллюски, морские хордовые животные асцидии) кислород переносится медь- или ванадийсодержащими белками. С другой стороны, это сходство служит предпосылкой к тому, что проникновение в организм из внешней среды избыточных

количеств одного или нескольких из них может привести к неравноценной замене комплексообразователя в металлоферментах и простетических группах.

Ионы непереходных металлов Pb^{2+}, Hg^{2+}, CH_3Hg^+ и Cd^{2+} образуют прочные комплексы с аминокислотами и другими биомолекулами, содержащими концевые тиогруппы (HS'). Например, весьма прочный комплекс с тиогруппой образует катион метилртути CH_3Hg^+. Сейчас установлено, что ионы ртути именно по этому механизму ингибируют более 100 различных ферментов. Из-за такого действия ионы свинца, ртути и кадмия относят, наряду с алкилирующими HS-группу органическими токсикантами, к категории тиоловых ядов.

Другой важный механизм токсического действия ртути и свинца заключается в вытеснении эссенциальных металлов из металлсодержащих комплексов, приводящем к потере последними биологической активности. Так происходит дезактивация участвующих в синтезе гема-ферментов карбоангидразы и аминолевулинатдегидрогеназы в результате замены содержащегося в них иона Zn^{2+} на Hg^{2+} или на Pb^{2+}.

Некоторые комплексы металлов с органическими лигандами близки по своим характеристикам (геометрический размер, распределение зарядов в молекуле и др.) к «обычным» субстратам и поэтому могут проявлять так называемый «эффект мимикрии», подменяя аминокислоты, гормоны и нейромедиаторы. Так, образуемый метилртутью и аминокислотой цистеином комплекс имитирует незаменимую аминокислоту метионин, участвующую в синтезе адреналина и холина. Такая подмена нарушает ход естественных процессов в организме.

Особенно опасны с точки зрения ингибирования синтеза гема-ионы Pb^{2+}. Помимо уже упомянутых ферментов – карбоангидразы и амино-левулинатдегидрогеназы – мишенью этих ионов служит феррохелатаза. Кроме того, ионы свинца активируют фермент гемокиназу, разлагающий гем. Таким же действием обладают ионы кобальта и кадмия. Потеря организмом животного гема приводит к дефициту гемоглобина и развитию анемии.

Токсический эффект тяжелых металлов связан также с нарушением синтеза различных форм цитохрома Р-450 монооксигеназ гладкого эндоплазматического ретикулума, содержащих в качестве простетической группы гем. Поскольку цитохром Р-450 отвечает за окисление ксенобиотиков, делающее возможным их последующую конъюгацию и выведение из организма, нарушение этой системы приводит к накоплению органических токсикантов в тканях и органах. Тяжелые металлы ингибируют также и некоторые звенья второй фазы детоксикации, в ходе которой, собственно, и осуществляется конъюгация подвергшегося окислению ксенобиотика с остатком глюкуроновой или серной кислоты. Цитохромы Р-450 участвуют в метаболизме не только ксенобиотиков, но и эндогенных биологически активных веществ – кортикоидных и тиреоидных гормонов, андрогенов, катехоламинов, витаминов группы D, холестерина и т. д. Поэтому нарушение их синтеза или снижение активности может вызвать глубокие нарушения самых различных процессов в организмах животных.

Активация пероксидного и свободнорадикального окисления отмечена в случае ионов свинца, ртути, хрома, кадмия и других тяжелых металлов. В результате такой активации повреждаются некоторые белки, нуклеиновые кислоты, липиды, а также биомембраны. Частично повреждающий эффект объясняется ингибированием металлами ферментов, защищающих организм от накопления в нем H_2O_2. Пероксид водорода является предшественником высокоактивного в реакциях окисления свободного радикала гидроксила.

Таким образом, основными молекулярными и клеточными мишенями для ионов тяжелых металлов служат: гемсодержащие белки и ферменты; ферменты, участвующие в процессах конъюгации; системы пероксидного и свободнорадикального окисления липидов и белков, а также системы антиоксидантной и антипероксидной защиты; ферменты транспорта электронов и синтеза АТФ.

На большом числе примеров было продемонстрировано взаимное усиление токсичности тяжелых металлов. Однако при парном сочетании обнаруживается не только синергизм, но и антагонизм. Так, в опытах с некоторыми видами фитопланктона был установлен антагонизм ртути и кадмия при их концентрациях на уровне 25 и 25–100 мкг/л соответственно. В целом же, между физико-химическими свойствами тяжелых металлов и их биологической активностью какие-то общие зависимости не выявлены. Вместе с тем к настоящему времени удалось обнаружить ряд полезных частных соотношений между этими характеристиками.

Тяжелые металлы играют важную роль в обменных процессах, но в высоких концентрациях вызывают загрязнение почв, вредно воздействуют на природные экосистемы. Их действие может быть прямым и косвенным. В первом случае блокируются реакции с участием фермента, что приводит к уменьшению либо к прекращению его каталитического действия. Косвенное воздействие проявляется в переводе питательных веществ в недоступное состояние и создании «голодной среды».

Для сопоставления токсичности тех или иных химикатов часто прибегают к использованию некоторых биологических видов в качестве тест-объектов (метод биотестирования). В опытах с дафниями *(Daphnia magna)* тяжелые металлы располагались в порядке уменьшения токсичности в следующий ряд:

$$\mathrm{Hg} > \mathrm{Ag} > \mathrm{Cu} > \mathrm{Zn} > \mathrm{Cd} > \mathrm{Co} > \mathrm{Cr} > \mathrm{Pb} > \mathrm{Ni} > \mathrm{Sn}\ .$$

Весьма интересно, что наблюдается очень высокая корреляция между растворимостью сульфидов тяжелых металлов и их токсичностью. Например, в опытах на аквариумных рыбках гуппи и на колюшках коэффициент корреляции составил – 0,92. Растворимость сульфидов изменяется в ряду:

$$\mathrm{Hg} < \mathrm{Ag} < \mathrm{Cu} < \mathrm{Pb} < \mathrm{Cd} < \mathrm{Ni} < \mathrm{Zn} < \mathrm{Mn}\ .$$

5.1.3. ТЯЖЕЛЫЕ МЕТАЛЛЫ В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ

В окружающей среде тяжелые металлы встречаются чаще всего в виде сульфидов. Из этого вытекает, *во-первых*, что металлы проявляют токсический эффект в растворенном состоянии (в ионных формах). *Во-вторых*, малая растворимость основных минералов таких элементов, как ртуть, свинец и кадмий, явилась «виновником» того, что живые организмы не выработали в ходе эволюции механизмов их детоксикации, достаточно эффективных для противодействия современному уровню антропогенного загрязнения ими окружающей среды.

Опасность, вызываемая загрязнением тяжелыми металлами, усугубляется еще и слабым выведением их из почвы. Так, период полувыведения в условиях почвенных лизиметров варьирует в зависимости от вида металлов следующим образом: для Zn – 70÷510 лет, Cd – 13÷1100, Cu – 310÷1500, Pb – 740÷5900 лет. Тяжелые металлы претерпевают в почве химические превращения (рис. 5.1), в ходе которых их токсичность изменяется в очень широких пределах.

Рис. 5.1. Круговорот тяжелых металлов в почве

Наибольшую опасность представляют *подвижные формы тяжелых металлов*, т.е. наиболее доступные для живых организмов. Подвижность же существенно зависит от почвенно-экологических факторов (содержание органического вещества, кислотность почвы, окислительно-восстановительные условия, плотность почвы и др.) (табл. 5.1).

Таблица 5.1

Подвижность элементов в зависимости от условий среды (Кабата – Пендиас, Пендиас, 1989)

Степень подвижности	Среда	Элементы
Высокая	Окислительная и кислая	B, Br, I
	Нейтральная или щелочная	B, Br, I, Mo, U, V, W
	Восстановительная	Br, I
Средняя	Окислительная и кислая	Cs, Mo, Ra, Rb, Se, Si, Zn
	Кислая	Ag, Au, Cd, Co, Cu, Hg, Ni
	Восстановительная, с переменным потенциалом	As, Cd, Co, Cr, F, Fe, Ge, Mn, Nb, Sb, Sn, Ti, U, V
Низкая	Окислительная и кислая	Ba, Be, Bi, Cs, Fe, Ga, Ge, La, Li, Th, Ti, I
	Нейтральная или щелочная	Ba, Be, Bi, Ge, Hf, Ta, Fe, Zr
Очень низкая	Окислительная и кислая	Cr, Os, Pt, Rh, Ru, Ta, Zr
	Нейтральная или щелочная	Ag, Au, Cu, Co, Ni, Th, Ti, Zn
	Восстановительная	Ag, B, Ba, Be, Bi, Co, Cu, Cs, Ge, Hg, Li, Mo, Ni, Ra, Re, Se, Zn, Zr

Тяжелые металлы способны образовывать сложные комплексные соединения с органическим веществом почвы, поэтому в почвах с высоким содержанием гумуса они менее доступны для поглощения.

Катионообменная способность почв зависит от минералогического состава илистой фракции, а также от количества органического вещества. Чем выше емкость катионного обмена, тем больше тяжелых металлов удерживает почва и тем меньше тяжелых металлов поступает в растения и живые организмы.

Избыток влаги в почве способствует переходу тяжелых металлов в низшие степени окисления и в более растворимые формы. Анаэробные условия повышают доступность тяжелых металлов растениям. Поэтому дренажные системы, регулирующие водный режим, способствуют преобладанию окисленных форм тяжелых металлов и тем самым снижению их миграционной способности.

Уникальное значение *подвижных соединений* химических элементов почвы состоит в том, что они обусловливают выполнение почвой ее экологических функций. С этой группой соединений связан малый биологический круговорот и в значительной мере большой геологический круговорот химических веществ. Образование и перераспределение в почвенном профиле подвижных соединений типоморфных элементов составляет основное содержание элементарных почвообразовательных процессов, миграция их в почвенном профиле обеспечивает его дифференциацию и природное разнообразие почв. Биогенные элементы в составе подвижных соединений обеспечивают питание растений и повышают плодородие почв.

Повышенное содержание тяжелых металлов в почве ведет к их накоплению растениями. В табл. 5.2 приведены некоторые, наиболее типичные с нашей точки зрения данные, которые обозначают возможные пределы концентраций химических элементов в почвах, а также наиболее чувствительные виды растительности и типичный характер их реакции на повышенные концентрации элементов.

В загрязненных почвах значительная часть поллютантов оказывается в составе подвижных соединений. Они же обусловливают способность загрязненных почв влиять на сопредельные среды.

Формы миграции тяжелых металлов в природных водах и, в частности, в почвенных, многообразны, их основные виды представлены на рис. 5.2. Взвешенные и коллоидные формы соединений входят в состав почвенных гранулометрических фракций, а истинно растворенные извлекаются в составе водных вытяжек из почв. Процессы поступления и трансформации тяжелых металлов в почве представлены на рис. 5.3.

***Основными антропогенными источниками тяжелых металлов служат*:** предприятия тепло- и электроэнергетики; предприятия черной и цветной металлургии; горнодобывающие предприятия; цементные заводы; химические предприятия; гальванические производства; автотранспорт.

Поскольку выбрасываемые антропогенными и природными источниками металлы преимущественно входят в состав твердых частиц, продолжительность их пребывания в атмосфере определяется временем жизни различных фракций аэрозоля и пыли, т. е., как правило, не превышает в нижней атмосфере 1–2 недель. Исключение составляют пары ртути и элементы, образующие гидрофобные, довольно летучие и инертные металлоорганические соединения. В число этих элементов помимо ртути входят свинец, олово, а также сурьма и мышьяк.

Долгоживущими формами металлов, вероятно, могут быть их карбонилы, такие как весьма летучий тетракарбонил никеля $Ni(CO)_4$ (т. кип. 42,3°С) или пентакарбонил железа (т. кип. 103°С).

Пары металлической ртути в атмосфере принимают участие в окислительно-восстановительных процессах, сказывающихся на скорости ее осаждения. Поскольку газообразная ртуть удаляется из атмосферы довольно медленно (среднее время ее пребывания в тропосфере оценивается в 0,5–2 года), она может переноситься на большие расстояния. Напротив, соединения двухвалентной ртути находятся в атмосфере всего лишь несколько суток, так как они легко растворимы и быстро вымываются осадками.

Главное направление очищения атмосферы от тяжелых металлов – их сухое и влажное осаждение на подстилающую поверхность. По результатам измерений в 1980–1990-х гг. в странах Западной Европы, поток различных металлов на почву характеризовался следующими величинами [мг/(м·год)]: Pb – 2–50, Zn – 5–35, Cu – 1–25, Ni –0,2–2, Cd и Cr – 0,1–1.

На северо–востоке США в те же годы этот поток для свинца, цинка и кадмия лежал в пределах 20–50, 47–54 и 0,7–2 мг/($м^2$·год) соответственно. *Следовательно, осаждение из атмосферы – один из важных путей загрязнения почв и водоемов этими токсикантами.*

Особенно интенсивно происходит загрязнение территорий в импактных зонах предприятий металлургической промышленности. Например, потоки некоторых металлов из атмосферы на подстилающую поверхность в зоне влияния медно-никелевого производства на севере Кольского полуострова в зависимости от расстояния достигают значительных величин (табл. 5.3).

Таблица 5.2

Содержание химических элементов в почвах и реакция некоторых видов растений на повышенные уровни почвенного загрязнения

Группа химических элементов	ПОЧВА, мкг/г		РАСТЕНИЯ, мкг/г				
	Среднее содержание (фон)	Содержание при химическом загрязнении	Признаки поражения	Чувствительные виды	Содержание, мкг/г сухой массы		
					Дефицит	Норма	Избыток
1	2	3	4	5	6	7	8
I Cu (Li, Rb, Cs, Ag, Au)	6–60 (12,5)*	30–300 (городские сады), 450–2000 (цв. металлургия), 1400–3700 (обработка металлов)	Темно-зеленая окраска листа, толстые короткие корни, угнетенные побеги	Злаки, бобовые, шпинат, цитрусовые	3–5	5–30	30–100
II Zn (Be, Sr, Ba)	170–125 (83,5)	200–1400 (орошение земель стоками), 100–1200 (с/х угодья, сады)	Хлороз и некроз кончиков листа, междужилковый хлороз, задержка роста, повреждение корней	Злаки, шпинат	10–20	25–150	100–400
Cd	0,07–1,1 (0,5)	0,4–13,0 (городские почвы), 0,6–14,0 (горнорудный р-н), 2,0–144 (добыча руды), 7,0–35,0 (орошение земли стоками, удобрения)	Бурые края листьев, хлороз, красноватые жилки, черенки, скручивание листьев, бурые недоразвитые корни	Бобовые, шпинат, овес, морковь	–	0,05–0,2	5,0–30
Hg	0,2–0,4	0.03–0.25 (городские почвы), 0,1–5,7 (хлор-щелочное произв-во), 0,2–4,2 (рудный р-н), 0,3–1,5 (орошение стоками), 9,0–11,5 (пр-во фунгицидов)	Хлороз листьев, бурые пятна, торможение развития корней	Сахарная свекла, розы	–	–	1,0–3,0
III Al (B, Ga, In, Tl, Sc, Ir, La)	4500–100000	–	Задержка роста, темно-зеленые листья, пурпурные стебли, уродливые корни	Злаки	–	–	–
IV Pb (Se, Ge, Sn, Ti, Zr, Gf)	6–40	6–11000 (городские почвы), 50–21500 (горнорудный р-н), 60–250 (орошение стоками), 70–3000 (металлург. пр-во), 100–7000 (обочины дорог)	Темно-зеленые листья, скручивание листа, бурые короткие корни	Зерновые, кукуруза	–	5–10	30–300

Окончание таблицы 5.2

1	2	3	4	5	6	7	8
IV Pb (Se, Ge, Sn, Ti, Zr, Gf)	6–40	6–11000 (городские почвы), 50–21500 (горнорудный р-н), 60–250 (орошение стоками), 70–3000 (металлург. пр-во), 100–7000 (обочины дорог)	Темно-зеленые листья, скручивание листа, бурые короткие корни	Зерновые, кукуруза	–	5–10	30–300
V As (Sb, W, V, Nb, Ta)	0,5–2,5	10–100 (применение пестицидов), 10–400 (химическое производство), 30–2500 (металлообработка), 90–900 (добыча, металлургия)	Красно-бурые некротические точки, угнетение побегов, снижение урожайности	Кукуруза, шпинат, рис, грибы	–	1,0–1,7	5,0–20,0
VI Cr (Se, Te, Po, Mo)	5–120	200–400 (промышленные стоки, орошаемые стоками земли)	Хлороз молодых листьев, бурая окраска, задержка роста корней	Овес, полевица, щучка и др. травянистые растения	–	0,1–0,5	5,0–30,0
VII F (Br, I, Ra)	10–1300	300–2000 (производство удобрений), 300–3000 (металлообработка), до 2000 (выплавка алюминия)	Некроз края листа, хлорозные и красно-бурые точки	Виноград, фруктовые деревья, кукуруза ячмень	–	3,0–30	50–500
Mn	10–9000	–	Хлороз, некротические поражения старых листьев, буро-красные или черные пятна, чахлые корни	Злаки, бобовые, картофель, капуста	15–25	20–300	300–500
VIII Co (Fe, Pt)	0,1–20,0	3–12 (орошение сточными водами), 6–14 (шоссе, около аэропорта), 10–150 (металлургическое производство), 13–85 (рудное месторождение)	Междужилковый хлороз молодых листьев, уродливые корни	Злаки	–	0,02–1,0	15,0–50,0
Ni	5,0–90,0	2–1200 (рудники), 20–100 (орошение сточными водами), 20–26000 (металлообработка)	Междужилковый хлороз молодых листьев, серо-зеленый цвет листа, бурые чахлые корни	Злаки	–	0,1–5,0	10,0–100,0

Примечание. *в скобках – среднее значение.

Рис. 5.2. Формы миграции тяжелых металлов в природных и почвенных водах (Линник, Набиванец, 1986)

Рис. 5.3. Источники и трансформация тяжелых металлов в почве

Таблица 5.3

Потоки некоторых металлов из атмосферы на подстилающую поверхность в зоне влияния медно-никелевого производства на севере Кольского полуострова, мг/м^2·год

Элемент	5 км	10 км	25 км	50 км
Ni	845	506	66,3	4,3
Cu	494	198	49,4	3,3
Co	53,8	16,5	4,5	0,2

Между тем способность почв к самоочищению от тяжелых металлов невелика. Из довольно богатых органическим веществом лесных почв бореального пояса с поверхностным стоком удаляется только примерно 5% поступающего из атмосферы свинца и около 30% цинка и меди. Остальная часть выпавших металлов практически полностью задерживается в поверхностном слое почвы, поскольку миграция вниз по почвенному профилю происходит крайне медленно – со скоростью 0,1–0,4 см/год. Поэтому время полувыведения свинца, в зависимости от типа почв, может составить от 150 до 400 лет, а для цинка и кадмия – 100–200 лет.

В качестве меры воздействия атмосферных выпадений тяжелых металлов может быть использован период времени *T,* за который произойдет увеличение их содержания в почве, вдвое превышающее естественный (фоновый) уровень:

$$T\left(\text{лет}\right) = M_t / (k_t P_t)\,, \qquad (5.1)$$

где M – исходный уровень i-го металла в слое почвы заданной мощности, мг/м^2; P_t – плотность атмосферного потока этого металла, мг/м·год; k_t – коэффициент, учитывающий вынос металла из почв со стоком.

Исходя из значений M и k_t для тех или иных типов почв, легко оценить критическую величину потока, при которой можно ожидать сохранения исходного качества почвы. Для лесных почв умеренного пояса критическая величина потока кадмия составляет всего лишь 0,04–0,06 мг/м^2·год (Яхнин и др., 1997), тогда как его поток из атмосферы, в Северном полушарии лежит в пределах 0,1–2 мг/м^2·год. Следовательно, в данном регионе происходит прогрессирующее загрязнение почв этим опасным токсикантом. При нынешней структуре атмосферных выпадений вероятность проявления техногенного загрязнения лесных почв бореального пояса изменяется в ряду:

$$\mathrm{Cd, Pb} > \mathrm{Zn, Cu, Ni} > \mathrm{V, Cr, Co}\,.$$

В начале 90–х гг. XX в. суммарное годовое поступление тяжелых металлов в атмосферу в результате различной производственной деятельности в Северной Америке и Европе составляло: свинца – 370 тыс. т (в том числе за счет этилированного бензина 280 тыс. т), мышьяка – 31,2 тыс. т (черная и цветная металлургия, производство стекла, цемента), кадмия – 7,6 тыс. т (цветная ме-

таллургия 6,2 тыс. т) и т.д. На предприятиях цветной металлургии при производстве 1 т продукции в окружающую среду выносится 40–60 кг свинца, до 3 кг мышьяка, около 280 г ртути, около 13 г кадмия.

Масштаб возмущений, вносимых человеком в окружающую среду, стал сопоставимым, а в ряде случаев даже превышать действие сил самой природы. В качестве примера в табл. 5.4 приведено сравнение выбросов в атмосферу тяжелых металлов в результате техногенных и природных (прежде всего в результате выветривания, извержения вулканов и лесных пожаров) процессов.

Таблица 5.4

Сравнение совокупного (полного) выделения редких металлов в атмосферу согласно двум последним сводкам, тысяч тонн в год (Коптюг, 2006)

Элемент	Естественный	Искусственный
Сурьма	2,6	3,5
Мышьяк	12,0	19,0
Кадмий	1,4	7,6
Хром	43,0	31,0
Медь	28,0	35,0
Свинец	12,0	332,0
Марганец	317,0	38,0
Ртуть	25	3,6
Никель	29,0	52,0
Селен	10,0	6,3
Ванадий	28,0	86,0
Цинк	45,0	132,0

Показатели масштабов использования тяжелых металлов представлены в табл. 5.5.

Сельское хозяйство тоже загрязняет почвы тяжелыми металлами (табл. 5.6). По оценкам ЦИНАО, к 1990 г. с фосфорными удобрениями в целом по бывшему СССР внесено в почву 16633 т свинца, 3200 т кадмия и 533 т ртути. Цифры достаточно впечатляющие.

Одним из последствий антропогенного воздействия тяжелых металлов (ТМ) на окружающую среду является увеличение площади земель, загрязненных ими.

По данным агрохимических обследований, выявлены сотни тысяч гектаров пахотных земель, загрязненных тяжелыми металлами, на которых необходимо проводить специальные профилактические мероприятия, предотвращающие загрязнение растительной продукции токсикантами.

В Румынии вблизи металлургического предприятия в слое почвы 0–10 см общее содержание тяжелых металлов составляло (мг/кг): цинка – 790,0; свинца – 552,0; меди – 77,3; кадмия – 22,6. Исходя из максимально допустимых уровней загрязнения в почве (Zn – 300 мг/кг, Pb – 100, Cu –100, Cd – 3 мг/кг), выявлено 20 тыс. га почв с максимальным уровнем загрязнения и 100 тыс. га с высоким содержанием загрязняющих веществ.

Таблица 5.5

Глобальное техногенное поступление микроэлементов в почвы (тыс. т/год)

Источники поступления	As	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Сельскохозяйственные отбросы	3,00	1,50	47,50	20,50	0,75	25,50	14,20	81,0
Навоз	3,30	0,70	25,00	47,00	0,10	19,50	11,60	235,0
Лесозаготовки	1,60	1,10	10,10	22,0	1,10	12,50	7,40	39,0
Городские отбросы	0,40	4,20	19,30	26,50	0,13	6,10	40,00	59,5
Городские стоки	1,12	0,28	6,20	12,40	0,45	13,50	5,75	37,5
Органические отбросы, включая экскреции	0,12	0,45	0,24	0,32		1,70	0,81	1,1
Твердые отбросы, металлолом	0,11	0,04	1,52	4,37	0,04	1,67	7,50	10,9
Угольная пыль и шлаки	21,80	7,20	305,00	372,00	2,60	167,50	143,50	298,0
Удобрения	0,01	0,14	20,50	0,31		0,37	1,35	0,7
Торф (удобрение и топливо)	0,27	0,55	0,11	1,07	0,01	17,60	1,50	1,9
Коррозия металлов, химикаты	38,50	1,19	457,00	559,00	0,68	19,20	2925,0	466,0
Атмосферные выпадения	13,20	5,30	21,55	25,00	2,50	24,00	432,0	92,0

Таблица 5.6

Сельскохозяйственные источники загрязнения почв тяжелыми металлами и фтором, мг/кг сухой массы (Кабата – Пендиас, Пендиас, 1989)

Элемент	Орошение сточными водами	Фосфорные удобрения	Известковые материалы	Азотные удобрения	Органические удобрения	Пестициды
As	2–26	2–1200	0,1–24,0	2,2–120,0	3–25	22–60
Cd	2–1500	0,1–170,0	0,04–0,10	0,05–8,50	0,03–0,80	–
Co	2–260	1–12	0,4–3,0	5,4–12,0	0,3–24,0	–
Cr	20–40000	66–245	10–15	3,2–19,0	5,2–55,0	–
Cu	50–3300	1–300	2–125	1–15	2–60	12–50
F	2–740	8500–38000	300	–	7	18–45
Hg	0,1–55,0	0,01–1,20	0,05	0,3–2,9	0,09–0,20	0,8–42,0
Mn	60–3900	40–2000	40–1200	–	30–550	–
Mo	1–40	0,1–60,0	0,1–15,0	1–7	0,05–30,00	–
Ni	16–5300	7–38	10–20	7–34	7,8–30,0	–
Pb	50–3000	7–25	20–1250	2–27	6,6–15,0	60
Se	2–9	0,5–25,0	0,08–0,10	–	2,4	–
Sn	40–700	3–19	0,5–4,0	1,4–16,0	3,8	–
Zn	700–49000	50–1450	10–450	1–42	15–250	1,3–25,0

В Японии загрязнение почв выхлопными газами и пылью плавильных заводов обусловило увеличение содержания в верхнем 15–сантиметровом слое почвы кадмия, меди, свинца, цинка в 1,5–50 раз.

Особенно актуальна эта проблема для городов, на территории которых расположены крупные промышленные предприятия. В результате работы заводов, фабрик и других объектов в атмосферу выбрасываются большие объемы пыли, содержащей ТМ и другие загрязняющие вещества (ЗВ), которые попадают в верхние слои городских почв. Даже при относительно невысоких концентрациях в воздухе взвешенных веществ, в почвах городов достаточно быстро накапливается большое количество вредных компонентов, осаждающихся из атмосферы. Вследствие этого в ареале воздействия предприятий, который может достигать нескольких километров, наблюдается аномально высокое содержание ЗВ, в том числе ТМ, часто на порядки превышающее предельно допустимые и фоновые концентрации (геохимические аномалии). В результате не только ухудшается качество почвы, что особенно важно для городов, на территории и вблизи которых имеются зоны индивидуальной застройки с развитой системой приусадебных хозяйств, но и образуется дополнительный источник загрязнения поверхностных и подземных вод, нередко использующихся в качестве питьевых. Одновременно открытые участки почвы становятся мощным источником вторичного загрязнения атмосферного воздуха.

Для количественной характеристики процессов вовлечения химических веществ в глобальные циклы их на планете вводятся новые термины (Глазовская, 1997). Например, фактор мобилизации (EF) или фактор техногенного обогащения, который рассчитывается как отношение техногенного потока химического элемента к природному. Максимальные уровни техногенного обогащения характерны для Hg (440), Pb (100), Ag (83), минимальные – для Cr, Co, Mn (< 2). Уровень этого показателя, как и показателя технофильности, является отражением, с одной стороны, уровня выбросов химического элемента в виде отходов, с другой – исходного содержания его в литосфере. Химический состав культурных ландшафтов резко меняется в результате техногенеза. В культурных ландшафтах по сравнению с природными идет накопление более технофильных элементов: увеличивается доля соединений железа, расширяется соотношение между Cu : Zn, Ni : Co, т. е. техногенез меняет не только уровень содержания, но и соотношение элементов в окружающей среде. Данные табл. 5.7 показывают, как велик этот индекс.

Максимальные уровни техногенного обогащения характерны для Hg (440), Pb (100), Ag (83), наименьшие – для Cr, Co, Mn (<2). Уровень этого показателя, как и показатель технофильности, является отражением, с одной стороны, уровня выбросов химического элемента в виде отходов, с другой стороны – исходного содержания его в литосфере. Наибольший уровень техногенного концентрирования элементов характерен для ртути и селена, для элементов с самым низким фоновым содержанием. Эти показатели позволяют вычислить ориентировочно время удвоения содержания элементов в верхних слоях почвы. Предполагается, что в среднем на планете содержание ртути и свинца в верхних 10 см почвы удвоится за катастрофически малое время – 22–29 лет.

Таблица 5.7

Сопоставление природных и техногенных потоков (Lantzy, Maccenzu, 1979, Galloway, 1988)

Элемент	Эмиссия, 10 т/год		EF
	природная	техногенная	
Ag	0,6	50	83
As	28	780	28
Cd	2,9	55	19
Cr	580	940	1,6
Cu	190	2600	13
Hg	0,4	ПО	440
Mn	6100	3200	0,5
Co	70	50	0,7
Mo	11	510	45
Ni	280	980	3,5
Pb	40	4000	100
Sb	9,8	380	39
Sn	52	430	8,3
V	650	2100	3,2
Zn	360	8400	23

5.2. ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИОРИТЕТНЫХ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Ниже приведена краткая экотоксикологическая характеристика наиболее распространённых тяжелых металлов.

5.2.1. РТУТЬ

Среднее содержание ртути в литосфере (ее кларк) составляет 83 мкг/кг. Она образует самостоятельные минералы, такие как киноварь и метациннабарит (HgS), ливингстонит ($HgSb_4S_7$) и другие. Труднорастворимые сульфидные минералы довольно активно выщелачиваются водами с высоким содержанием гумусовых соединений.

Весьма значительным источником ртути для водных объектов служат также некоторые районы залегания минералов-концентраторов, к числу которых относятся сфалерит (ZnS), а также самородное золото и серебро. О высоком содержании ртути в золоторудных месторождениях говорит то, что при добыче 1 т золота в окружающую среду поступает около 100 кг ртути. В некоторых недавно открытых золотортутных месторождениях России содержание ртути намного превосходит содержание золота (10–3000 и 2–10 г на 1 т породы соответственно). По некоторым оценкам, всевозможные природные источники ежегодно поставляют в водные объекты около 1300 т ртути.

В атмосферу этот металл поступает в виде паров в результате дегазации земных недр, а также в форме различных соединений в составе вулканического и морского аэрозоля. В сумме природная эмиссия ртути в атмосферу составляет примерно 3000 т/год. Как видно из табл. 5.8, в настоящее время атмосферная часть естественного глобального бюджета ртути значительно нарушена, поскольку антропогенные источники дают в 1,5 раза больше, чем природные. Изучение состава донных отложений озера Уиндермир в Англии позволяет датировать начало антропогенного загрязнения окружающей среды ртутью шестнадцатым веком. Однако наиболее быстрые темпы оно приобрело в 1920–1930-е гг. В настоящее время ежегодное производство металлической ртути составляет 8–10 тыс. т, из которых примерно половина «теряется», т. е. поступает в воды, воздух и почву. К этому надо добавить также эмиссии других форм ртути, сопровождающие выплавку цветных металлов, сжигание угля и производство цемента.

Таблица 5.8

Атмосферный бюджет ртути (Ягольницер и др., 1995)

Источники и стоки	Поток, т Hg/год			
	Земля в целом	Европа	Канада	США
Природные эмиссии	3000	10	20	20
Антропогенная эмиссия	4500	1100	30	650
Всего	7500	1110	50	670
Влажное осаждение	5000	400	150	300
Сухое осаждение	2500	100	100	50
Всего	7500	500	250	350

Можно выделить *три основные группы* отраслей промышленности, выбрасывающие наибольшие количества ртути:

1) предприятия цветной металлургии, извлекающие ртуть из ее руд и концентратов;

2) предприятия, добывающие и перерабатывающие руды различных металлов и углеводороды, а также производящие цемент и флюсы;

3) предприятия, на которых ртуть является одним из элементов производственного цикла (в их число входят электротехническая и электронная отрасли, химические производства фунгицидов, красителей, хлора и каустической соды).

Этот металл и его соединения широко применяются в промышленности, сельском хозяйстве, медицине, а также в быту. На первый взгляд может показаться, что использование ртути в быту незначительно. Достаточно сказать, однако, что только из разбитых термометров ежегодно теряется около 60 т Hg, т. е. примерно 8% от количества, поступающего в результате процессов выветривания. В современных крупных городах заметным источником оказываются лечебные заведения, в которых используются ртутьсодержащие дезинфицирующие растворы и некоторые зубопротезные материалы, а также, различные лаборатории, где применяются ртутьсодержащие реактивы и обо-

рудование. По опубликованным в США данным, половина общего количества ртути сточных вод городов поступает именно от этих организаций.

О масштабах потерь ртути в некоторых видах производств можно судить по следующему примеру. Завод синтетического каучука в г. Караганде (Казахстан), использующий ртутные катализаторы, ежесуточно сбрасывал в р. Нуру 170 тыс. $м^3$ очищенных сточных вод с концентрацией ртути от 0,02 до 0,1 $мг/дм^3$ (от 3,4 до 17 кг в сутки). В результате вниз по течению реки в донных отложениях накопилось около 100 т Hg, из них 60 т – в пределах первых 20 км.

Наиболее интенсивное загрязнение ртутью наземных экосистем и начало ее накопления в пищевых цепях пришлось на 1940–е гг., когда для протравливания семян сельскохозяйственных культур стали использовать ртутьсодержащие фунгициды. Так, в Швеции после 1940 г. для этих целей длительное время применяли метилртутьдицианамид, причем концентрация Hg в семенах достигала 15–20 мг/кг. В Дании для этого использовали фенилртуть, а в Финляндии – алкоксиалкилаты ртути.

В результате к началу 1950–х гг. произошли большие потери среди зерноядных (куропатки, овсянки, фазаны), а затем хищных птиц (совы, филины, пустельги, ястребы). Например, пустельга в некоторых районах Швеции полностью исчезла. Была также отмечена массовая гибель зайцев, питавшихся проростками зерновых культур, содержащими большие количества ртути.

В индустриальных районах заметным источником ртутного загрязнения почв сейчас служат атмосферные выпадения. В дождевой воде, собираемой в Московской области, ее валовая концентрация в 1980–х гг. в среднем составляла 0,67 $мкг/дм^3$, а в других промышленных районах России средние концентрации находились на уровне 0,25 $мкг/дм^3$.

В поверхностных пресных водах среднее содержание ртути составляет 0,1 мкг/ $дм^3$ при вариациях от 0,0001 до 2,8 $мкг/дм^3$. В водных экосистемах ртуть присутствует в составе различных комплексов, соотношение которых зависит от конкретных условий среды. Основной гидроксоформой в пресных водах является комплекс $[Hg(OH)_2]$, устойчивый при pH более 6. В слабокислых водах при достаточной концентрации ионов хлора подавляющая часть ртути может находиться в форме $HgCl_2$. В богатых гумусовыми веществами водах с pH от 6 до 9 она практически полностью включается в прочные комплексы с гуминовыми и фульвокислотами. Исследование молекулярно-массового распределения говорит о преимущественном нахождении ртути в низкомолекулярных комплексах (< 500–1000 Да).

Заметную роль в миграции ртути играют также ее коллоидные и взвешенные формы, поскольку она активно сорбируется на глинистых частицах. Их осаждение приводит к накоплению ртути в донных осадках. Высвобождение ее и вторичное загрязнение вод происходит как абиотически, так и при участии микроорганизмов.

Гумусовые вещества при pH > 2 могут восстанавливать двухвалентную ртуть до элементной. Кроме того, гуминовые и фульвокислоты способны служить донорами метильных групп: экспериментально установлено образование метилртути в суспензии гуминовых кислот при pH 6–8 и температурах 20–70°C. Этот процесс идет в темноте, но в принципе химическое метилиро-

вание может происходить и под действием света, когда оно сопряженно с фотостимулированным растворением сульфидных минералов. Если в омывающих сульфиды водах содержатся ацетат-ионы, то Hg^{2+} образует соль $(CH_3COO)_2Hg$, подвергающуюся фотохимическому разложению с перегруппировкой:

$$\left(CH_3COO\right)_2 Hg \xrightarrow{h\nu} \left(CH_3COO\right)HgCH_3 + CO_2 .$$

Однако главную роль в метилировании ртути играют микроорганизмы. Биохимическое метилирование осуществляют микроскопические организмы разных таксономических групп: анаэробные и аэробные бактерии, актиномицеты рода *Mycobacterium,* грибы *Aspergillus* и *Neurospora,* часть из которых перечислена в табл. 5.9. У всех этих микроорганизмов процесс идет по механизму переноса аниона CH_3^- и катализируется энзимом метилтрансферазой с метилированной формой витамина B_{12} (метилкобаламин CH_3CoB_{12}.) в качестве простетической группы:

$$Hg^{2+} \xrightarrow{CH_3CoB_{12}} CH_3Hg^+ ,$$

$$CH_3Hg^+ \xrightarrow{CH_3CoB_{12}} CH_3HgCH_3 .$$

Таблица 5.9

Микроорганизмы, метилирующие ртуть

Род	Условия обитания		Род	Условия обитания	
	анаэробные	аэробные		анаэробные	аэробные
Methanobucillus	+	–	Staphylococcus	–	+
Closlridium	+	–	Mycobacterium	–	+
Bacteroides	+	–	Aspergillus	–	+
Escherichia	+	+	Neurospora.	–	+
Enterobacter	+	+	Scopulariopsis	–	+
Pseudomonas	+	+	Saprolegnia	–	+
Streptococcus	–	+	Myrothecium	–	+

Вероятно, этот механизм является превалирующим в микробиологическом синтезе метилированных форм ртути, но не единственным. Кроме метилкобаламина в качестве метилирующих коферментов выступают S-аденозилметионин и N_5-метилтетрагидрофолаты. Но только они переносят метильную группу в виде карбкатиона CH^+_3.

Донором метильной группы в реакции, катализируемой трансметилазой, может служить также холин. Например, гриб *Neurospora* метилирует по этому механизму соли ртути, связанные в комплексы с гомоцистеином (а-амино-γ-тиомасляная кислота):

$$Hg^{2+} + RSH \rightarrow RSHg^+ ,$$

$$RSHg^{+} + (CH_3)_3NCH_2CH_2OH \xrightarrow{\text{трансметилаза}} CH_3Hg^{+} + RSH.$$

Образующиеся в результате метилирования моно- и диметилртуть различаются по своим свойствам. Если последняя гидрофобна, липофильна и довольно летуча, то первая – амфифильна, т.е. хорошо растворима как в воде, так и в липидах. Вследствие этого монометилртуть легко проникает через кожные покровы и другие физиологические барьеры организмов. Особенно интенсивно бионакопление органических форм ртути происходит в водных экосистемах.

Коэффициент биоконцентрирования липофильной и гидрофобной диметилртути составляет примерно 10^5. При этом наблюдается выраженная *экологическая магнификация* – увеличение концентрации токсиканта при переходе от низших трофических уровней экосистемы к высшим. Если в планктоне водной экосистемы содержание ртути составляет примерно 0,01 мкг/г, то в мышечных тканях хищных рыб оно достигает 0,5–1,5, а у птиц-рыболовов – 3–14 мкг/г.

На рис. 5.4 представлена примерная схема метаболизма ртути в водных экосистемах.

Рис. 5.4. Схема биотрансформации ртути в водной экосистеме

«Время жизни» ртути в тканях рыб очень велико (400–1000 сут), т. е. она выводится крайне медленно. Детоксикация ее в животных организмах осуществляется путем связывания со специфическими низкомолекулярными белками, накопление которых происходит в ответ на постоянную экспозицию токсиканта. У мидий были обнаружены две разновидности таких белков с молекулярными массами 10–12 и 20–25 кДа.

Употребление в пищу рыбы с высоким содержанием метилированных форм ртути стало причиной так называемой болезни Минамата. Симптомы ее – потеря чувствительности языка и губ, нарушение речи и координации движения при ходьбе – свидетельствуют о глубоких изменениях в центральной нервной системе. Эта болезнь, унесшая жизни более 200 человек (общее число пострадавших от нее составило несколько тысяч человек), впервые была зарегистрирована в г. Минамата (префектура Ниигата, Япония) в 1953 г. Кроме нарушений центральной нервной системы легко преодолевающие плацентарный барьер ртутьорганические соединения проявляют также эмбриотоксические эффекты: уровни содержания ртути в крови плода всегда выше, чем в крови матери. В 1978 г. было сообщено, что у значительной части детей, рожденных проживающими в районе залива Минамата женщинами, отмечались симптомы церебрального паралича и нарушения психического развития. У человека ртуть вызывает некрозы и лизис (разрушение) серого вещества головного мозга вплоть до полной атрофии.

Сброс ртутьсодержащих стоков – не единственный путь загрязнения водных экосистем. Довольно неожиданным оказалось высокое содержание ртутьорганических соединений в гидробионтах, обитающих в искусственных водохранилищах. При этом концентрации металла в абиотических компонентах (вода, донные отложения, взвеси), как правило, находились на уровне «фоновых». В данном случае источником загрязнения становятся затопляемые почвы. Содержащееся в них органическое вещество служит субстратом для сообществ микроорганизмов, включающих метаногены, клетки которых очень богаты метилкобаламином.

Сопоставление результатов изучения содержания ртути в обитателях новых и созданных более 10 лет назад водохранилищ показало, что наиболее интенсивно биометилирование и биомагнификация происходят в первые годы. При этом у рыб-фитофагов максимальное содержание ртути достигается примерно через пять, а у хищников – через семь лет после затопления. Возвращение к нормальным уровням концентраций происходит только через 15–25 лет.

В принципе можно избежать ртутного загрязнения, если заполнению водохранилища предшествует полное удаление из его будущего ложа растительности и верхнего слоя почвы. В случаях когда это не сделано и уровень содержания ртути в гидробионтах увеличивается, дальнейшее ее накопление может быть предотвращено добавлением в воду извести, поскольку биодоступность ртути резко уменьшается с увеличением pH воды. Поэтому ртутное загрязнение грозит не только новым водохранилищам, но и озерам, воды которых по тем или иным причинам становятся более кислыми. В частности, в озерах Швеции, и без того сильно страдающих от кислотных выпадений, отмечается повышение содержания ртути в рыбе до 1 мкг/кг (безопасной считается концентрация 0,5 мкг Hg/кг).

В середине 1980-х гг. в Швеции был проведен эксперимент по снижению ртутной опасности. Он заключался в добавке к озерной воде селена, образующего стойкий по отношению к окислителям и малорастворимый селенид HgSe. В 1984–1986 гг. добавка Na_2Se0_3 привела к увеличению концентрации

селена до 2–4 мкг/л (при фоновой 0,4 мкг/л) и к снижению содержания ртути в тканях окуня и щуки в 2–3 раза. Однако возникает вопрос, не сопряжено ли искусственное повышение концентрации селена (кстати, тоже легко подвергающегося биометилированию) с возникновением нового, пока еще неидентифицированного риска для гидробионтов и человека? Хотя этот элемент эссенциален, потребность в нем организмов очень невелика, а в избыточных количествах он сильно токсичен.

5.2.2. КАДМИЙ

По распространенности в природе *кадмий* относится к редким и рассеянным элементам: среднее содержание его в земной коре – около $1{,}1 \cdot 10^{-4}$%. Он не образует самостоятельных рудных месторождений, а является спутником цветных металлов. В частности, кадмий содержится в форме сульфида в составе основного минерала цинка – сфалерита. Относительно высоко (до 15 мг/кг) его содержание в фосфатных осадочных породах.

Основными природными источниками кадмия для атмосферы служат процессы выветривания и вулканизма. Глобальный поток вулканогенного кадмия оценивается величиной от 100 до 500 т/год. В гидросферу он попадает в результате эрозии и выщелачивания минералов. Теплота образования CdS составляет 8,1 кДж/моль, тогда как для $CdSO_4$ она равна 52,3 кДж/моль. Это означает, что сульфид кадмия в окислительных условиях неустойчив и должен переходить в сульфат. Высокая растворимость $CdS0_4$ в воде обуславливает высокую миграционную способность кадмия. Ежегодное поступление его в гидросферу оценивается примерно в 15000 т. Среднее содержание кадмия в морской воде равно примерно 0,1 мкг/л, а в речной оно обычно менее 0,02 мкг/л.

В промышленности кадмий используется главным образом в качестве противокоррозионного покрытия изделий из стали, стабилизатора поливинилхлорида, пигмента для пластмасс и стекла, а также электродного материала в никель-кадмиевых аккумуляторах и батареях. В химической промышленности соединения кадмия применяются в качестве катализаторов (производство терефталевой кислоты, гидрирование жиров и др.).

Основными антропогенными источниками кадмиевого загрязнения (его масштабы в середине 1980–х гг. составляли около 7600 т/год) служат предприятия по добыче цинка и гальваническое производство. Значительные количества кадмия поступают в окружающую среду с городскими отходами, содержащими отслужившие срок батареи и пластмассы: сжигание коммунальных отходов приводит к выделению содержавшегося в пластмассах кадмия в атмосферу.

Сельскохозяйственные почвы получают кадмий вместе с фосфатами, поскольку содержание его в этих удобрениях составляет обычно 35–260 г/т. Расчетная величина ежегодного поступления кадмия в пахотный слой почвы для стран ЕЭС равна 5 г/га, что составляет всего лишь около 1% общего его количества в этом слое. Однако непрерывное использование фосфатных удобрений в течение десятилетий заметно увеличивает содержание кадмия в

почве. Дополнительный его источник для агроценозов – осаждение из атмосферы (около 3 г/га в год).

Выпадающий из атмосферы и вносимый с удобрениями кадмий концентрируется в верхнем, пахотном слое. В почве он присутствует в двух фазах – твердой и в составе почвенных растворов. В твердой фазе кадмий входит в состав тонкодисперсных минеральных частиц и гумуса и является составной частью нерастворимых солей. Мобильность кадмия зависит от свойств почвы. Показано, что в почвах с низкой катионной емкостью, вследствие малого содержания ила и гумусовых компонентов, адсорбция его невелика.

В наземных экосистемах основным источником кадмия для живых организмов служит почва. Его поглощение растениями зависит от величины pH: установлено, что в кислых почвах содержание доступных форм этого элемента и его транслокация (переход в растительные ткани) увеличиваются. Извлеченный растениями кадмий передается далее по пищевым цепочкам, причем результаты исследований на разных видах организмов различных трофических уровней одних и тех же экосистем свидетельствуют о существовании биоконцентрирования.

В водных экосистемах фактором, определяющим уровень содержания кадмия в гидробионтах, оказалась способность тех или иных организмов сорбировать его из воды (коэффициент биоконцентрирования варьировал от 16 для водного гиацинта до 50800 для мидии), а не их положение в цепи питания. Иными словами, в этом случае свидетельства биоумножения не были получены. Относительно низкое содержание кадмия в морской рыбе объясняют тем, что в морской воде он присутствует в основном в наименее доступной для водных организмов форме хлоридных комплексов. С другой стороны, типичные для поверхностных вод континентов гидроксокомплексы и комплексы с низкомолекулярными фульвокислотами, ксантаты и дитиокарбаматы кадмия довольно легко проникают через биологические мембраны.

Высокая токсичность кадмия выявлена на примере многих микроорганизмов, растений и животных. Для некоторых видов пресноводных водорослей ингибирование ассимиляции углерода на 70–80% наблюдалось уже при концентрации Cd в воде 20 мкг/л. Самая низкая величина полулетальной концентрации (при 96-часовой экспозиции) составила 16 мкг/л для одного из видов креветки *(Mysidopsis bahia)*. Для дафний *(Daphnia magna)* токсические эффекты проявлялись уже при концентрациях выше 0,5 мкг/л.

Хроническое воздействие малых, порядка 10 мкг Cd/л, концентраций ингибирует системы ионного транспорта у водных беспозвоночных и рыб. При этом снижается содержание ионов Ca^{2+} в плазме крови, что объясняется ингибирующим действием кадмия на фермент Ca-АТФазу. При длительном (70 сут) нахождении гольяна *(Phoxinus phoxinus)* в воде с содержанием Cd 4,8–7,5 мг/л из 180 экземпляров выжил 101, причем у 31 из них были отмечены переломы задних отделов позвоночника.

Аналогичные эффекты наблюдаются и в случае воздействия кадмия на другие виды позвоночных животных. В этом отношении показательна история возникновения болезни итай-итай. Первые случаи заболевания были зарегистрированы в Японии в 1947 г., а к 1965 г. от нее погибло 100 человек и еще

большее число людей стали инвалидами. Болезнь начиналась с болей в спине и ногах, приводила к деформации скелета и множественным переломам костей. Возникала она у жителей, длительное время потреблявших рис с содержанием кадмия 1 мг/кг, выращиваемый на полях, в оросительные воды которых попадали загрязненные кадмием стоки промышленного предприятия. В условиях дефицита кальция при этом происходило его замещение на кадмий в белке кальмодулине, нарушение обмена кальция и фосфора в почках и последующее вымывание их из костей.

5.2.3. СВИНЕЦ

Как фактор серьезного экологического риска для здоровья населения свинец привлек к себе внимание науки и общества только во второй половине XX столетия, главным образом, в связи с загрязнением воздуха *выхлопными газами двигателей внутреннего сгорания*, работающих на горючем с антидетонационной добавкой тетраэтилсвинца, разлагающегося при вспышке до неорганических соединений свинца. В связи с этим отметим, что в последнее время в некоторых западных странах и отчасти в России и Казахстане наметился постепенный отказ от этой добавки.

Второе место в качестве источника техногенного свинцового загрязнения окружающей среды занимает *цветная металлургия* (выплавка свинца и его сплавов, медеплавильное производство), но локально этот источник загрязнения может преобладать над транспортным. Так, в масштабах России около 80% свинцовых эмиссий металлургических заводов приходится на Екатеринбургскую область. На третьем месте – *сжигание каменного угля* и различные технологические процессы во многих отраслях промышленности, связанных с использованием свинца или его сплавов (производство аккумуляторов, пайка, лужение и пр.).

От всех этих источников свинец попадает в атмосферу в виде тонкодисперсных аэрозолей оксидов, сульфатов, отчасти сульфидов и других неорганических соединений. Оседание аэрозольных частиц приводит к загрязнению свинцом почвы, откуда он переходит в растения, а затем и в организм животных и человека. В результате смыва с загрязненной почвы, а также с промышленными стоками металлургических, машиностроительных и химических производств через загрязняемые ими реки в Мировой океан ежегодно поступает 430–650 тыс. тонн свинца в виде взвесей и растворов его соединений. Дополнительным локальным источником попадания свинца в пищу и питьевую воду нередко является миграция его из свинецсодержащих глазурей, припоев, полуд и т.п.

Наибольшую озабоченность вызывает влияние свинцового загрязнения среды обитания на развитие и здоровье детей. Указанные пути экспозиции к свинцу, а также особенности поведения детей (заглатывание несъедобных предметов, которые могут быть загрязнены, в том числе земли и снега, привычка сосать пальцы, грызть ногти и т.д.) приводят к более значительному накоплению свинца в организме детей по сравнению со взрослыми, находящимися в той же среде обитания.

В организме свинец распределяется между всеми органами и тканями, действие на которые и определяет многообразие токсических эффектов. Особую опасность вызывает накопление свинца в наиболее чувствительных к его токсическому действию нервной ткани и костном мозге. Относительно стойкое отложение свинца формируется в костной ткани, которая может стать внутренним источником, поддерживающим повышенный уровень свинца в крови длительное время после прекращения или снижения внешней экспозиции, в особенности при деминерализации кости, связанной, например, с менопаузой.

Для оценки накопленной организмом дозы свинца обычно проводят измерение его концентрации в крови (откуда он поступает в другие ткани и выделяется, в основном, через почки). Используются также показатели выделения свинца с мочой и содержания его в костной и зубной ткани.

Специфичными эффектами хронической интоксикации свинцом являются нарушения некоторых биохимических механизмов, прежде всего, порфиринового обмена (подавление синтеза гема – основная причина свинцовой анемии), а также токсическое действие на все отделы нервной системы, особенно на развивающуюся нервную систему у детей. Описаны также разнообразные патологические изменения со стороны сердечно-сосудистой системы, почек, печени и кишечника, щитовидной железы, иммунной системы, женской и мужской репродуктивной системы. Выраженность всех этих нарушений и соотношение между ними зависят от дозы свинца в организме, а также от возраста и пола человека

Свинец не относится к числу физиологически необходимых биомикроэлементов, и имеющиеся эпидемиологические данные не позволяют с уверенностью говорить о низком дозовом пределе (пороге), совершенно безопасном для здоровья населения, в особенности детей. Концентрация свинца в крови детей, равная 10 мкг/дл, рассматривается как «настораживающий уровень», превышение которого может привести к задержке психического развития. Однако имеются данные, свидетельствующие о том, что этот эффект возможен и при концентрации свинца ниже указанного уровня.

При содержании свинца в крови 30 мкг/дл возможно замедление периферической нервной проводимости, при 40 мкг/дл – нарушения чувствительных и двигательных функций, а также активности автономной (вегетативной) нервной системы.

Порог, ниже которого у детей не обнаруживается снижение показателя гематокрита (свидетельствующее, прежде всего об уменьшении числа эритроцитов), соответствует концентрации свинца в крови 20 мкг/дл, а снижение содержания гемоглобина в крови наблюдается при концентрации 40 мкг/дл.

Риск нефропатии заметен при содержании свинца в крови свыше 60 мкг/дл, но более чувствительные тесты выявляют нарушения почечной функции и при его меньшей концентрации.

Можно ориентировочно принять, что сравнительное увеличение концентрации свинца в крови в два раза от любого уровня сопровождается повышением систолического артериального давления в среднем на 1 мм рт. ст. (и в несколько меньшей степени – повышением диастолического давления).

Некоторые эпидемиологические исследования свидетельствуют о том, что дозозависимое увеличение процента преждевременных родов, роста и созревания плода наблюдается при концентрации свинца в крови матери 75 мкг/дл или более.

Торможение ферментных систем и сдвиги биохимических показателей обнаруживаются (современными чувствительными методами) при содержании свинца в крови свыше 20 мкг/дл.

Экспериментальные исследования на животных (крысы, мыши) показали, что неорганические соединения свинца при разных путях введения вызывают развитие опухолей почек, глиом и легочных аденом, однако доказать их канцерогенность по отношению к организму человека не удалось даже при тщательном эпидемиологическом анализе на больших популяциях

Анализ результатов обследования 1706 девочек в возрасте 8–16 лет, проведенного в США, позволил установить несомненную связь между содержанием свинца в крови и задержкой полового созревания, которая на популяционном уровне выявляется уже при концентрации свинца в крови более *2* мкг/дл (Wu et al., 2003). Тем не менее, лимитирующим показателем свинцового риска для населения (кроме профессионального контингента, подвергающегося свинцовой экспозиции) пока служит критерий задержки психического развития детей. Социальная значимость этого эффекта и его последствия, ожидаемые в ближайшем будущем, обусловливают исключительное внимание медиков к проблеме «свинцовая экспозиция и дети».

Особая опасность свинца для детей связана не только с тем, что при одном и том же уровне его содержания в окружающей среде в детском организме свинца накапливается существенно больше, чем в организме взрослого (в расчете на единицу массы тела). Важнейшей с токсикологической точки зрения является проблема повышенной чувствительности к токсическому действию свинца развивающейся нервной системы детей. Именно по этому эффекту принят предложенный американскими центрами контроля и предупреждения болезней *(Centers for Disease Control and Prevention,* CDC) показатель, названный level of concern – «уровень озабоченности». Под этим показателем подразумевается та концентрация свинца в крови ребенка (PbB), превышение которой увеличивает вероятность снижения коэффициента интеллектуального развития (IQ), способности к обучению, вызывает нарастание поведенческих нарушений. В качестве такого уровня (который иногда ошибочно называют «нормой») рассматривается концентрация PbB > 10 мкг/дл.

«Уровень озабоченности» часто используется не только для оценки вредного действия свинца в индивидуальном плане, но и в популяционном, а именно, процент детей с превышением «уровня озабоченности» служит мерой популяционного риска. Такой критерий не является чрезмерно жестким, поскольку имеются данные, свидетельствующие о том, что и по коэффициенту интеллектуального развития IQ, и по некоторым другим психологическим тестам или поведенческим нарушениям порог вредного действия свинца значительно ниже (если он вообще существует). Это было отмечено в IPCS, 1995, и такие данные продолжают публиковаться. Например, при обследовании большой группы детей, среди которых ни у одного ребенка уровень PbB не достигал 10 мкг/дл, уже при PbB > 4 мкг/дл все использованные психологиче-

ские тесты показали худшие результаты по сравнению с детьми, у которых уровень PbB был ниже (Sovicova et al., 1998). Даже при PbB = 2,5 мкг/дл наблюдаются когнитивные нарушения при чтении, выполнении математических вычислений, визуальном конструировании. В некоторых работах вообще подвергается сомнению существование такого порогового уровня внутренней дозы свинца, ниже которого не проявляются нейротоксические эффекты с нарушением когнитивных функций.

Однако даже эти нарушения, возможно, не являются самым неблагоприятным эффектом нейротоксического воздействия свинца на развивающуюся высшую нервную деятельность. Еще важнее стойкие аномалии поведения, связанные с воздействием свинца, еще в раннем детском возрасте и даже внутриутробно. В дальнейшем они предрасполагают подростков к актам вандализма, агрессии, поджогам, воровству и другим правонарушениям (хотя они и не являются фатально неизбежными).

5.2.4. БЕРИЛЛИЙ

Природный бериллий существует в виде стабильного изотопа ^{9}Be. Оксид бериллия – очень устойчивое соединение. Большинство солей бериллия хорошо растворимо в воде, растворы имеют кислую реакцию. При проведении высокотемпературных процессов испаряющиеся соединения бериллия образуют аэрозоли.

Наиболее часто встречающимся минералом бериллия является берилл $3BeO\ A1_2O_3\ 6SiO_2$. Всего известно более 40 минералов бериллия. Среднее содержание бериллия в земной коре 3,8 г/т. В процессе выветривания пород бериллий и его соединения поступают в атмосферный воздух. Кроме того, они вымываются и мигрируют с грунтовыми и поверхностными водами. Содержание бериллия в воде рек – 0,0003 мг/л, морей – 0,0001 мг/л, океанов –0,0005 мг/л. Концентрация бериллия в атмосферном воздухе сельских мест составляет от 0,03 до 0,06 нг/м^3, в атмосферном воздухе промышленных городов 0,1–0,67 нг/м^3. Содержание Be в растениях составляет менее 1 мг/кг сухой массы, в морских организмах – около 100 мкг/кг сырой массы.

По данным американского Агентства по охране окружающей среды, ежедневное поступление бериллия в организм составляет около 423 нг. Из этого количества – 120 нг поступает с пищей, 300 нг – с водой, 1,6 нг – с воздухом, 1,2 нг – с пылью. Хотя поступление бериллия из воздуха в норме носит «минорный» характер, оно может становиться значительным вблизи источников бериллия. Например, в окрестностях *углесжигающих предприятий* поступление бериллия с вдыхаемым воздухом совместно с пылью может превышать иные пути поступления в 2–3 раза. *Другой источник* повышенного поступления Be с вдыхаемым воздухом – *курение*. В одной сигарете содержится 0,47–0,74 мкг Be, от 1,6 до 10% этого количества поглощается организмом. При выкуривании 20 сигарет в день поглощение бериллия может составить 1,5 мкг.

Антропогенными источниками поступления Be в окружающую среду являются промышленные объекты, использующие различные виды топлива, и предприятия, вырабатывающие или использующие бериллий и его соединения. Загрязнение атмосферы, воды, почвы бериллием происходит при сжигании топлива, *за счет выхлопных газов автотранспорта, выбросов промышленных предприятий,* в частности, железо- и стальпроизводящих. Загрязнение бериллием отмечается в районах расположения предприятий по добыче бериллиевых руд и их обогащению, в местах складирования концентратов и дальнейшей переработки.

По ориентировочным расчетам при переработке 1000 т бериллийсодержащего минерала в атмосферу выбрасывается около 5 кг Be.

Всего за год в атмосферу поступает примерно 8,9 т Be, что составляет всего 4,4% от всех источников его поступления в окружающую среду. Преобладающее количество бериллия – 93% выделяется при сгорании нефтяного топлива и особенно каменного угля (187,1 т). И только 2,6% Be в воздухе приходится на естественные источники (вулканы, пыль). В некоторых странах, например в Германии, введено ограничение на суммарное содержание бериллия, бенз[а]пирена, дибензантрацена в газовых выбросах печей для сжигания вредных отходов (оно не должно превышать 0,1 мг/м^3). В США в 1984 г. эмиссия Be составила 220 + 110 т в год (сожжено 790–10^6 т угля в год, среднее содержание Be в угле 1,4 мг/кг).

Предприятия по механической обработке изделий из Be через вентиляционные системы выбрасывают в атмосферу 0,01–0,7 мкг/м Be. По данным динамических наблюдений, в жилой зоне на расстоянии 500 м от завода среднее содержание Be в воздухе составило 0,006–0,012 мкг/м^3, максимальное 0,39–0,5 мкг/м^3, что превышает ПДК в 40–50 раз. Загрязнение воздуха прослеживалось на расстоянии до 2 км.

Повышенные концентрации бериллия в почве нарушают рост и развитие растений. Бериллий накапливается в корнях и меньше – в стволах и листьях. Токсические концентрации Be в созревших листьях составляют 10–50 мг/кг сухой массы. Этот интервал варьирует для разных видов растений и условий их произрастания.

Уже относительно низкие концентрации Be в растворе (2–16 мг/л) для растений очень ядовиты. Обычно проявляющиеся симптомы токсичности – бурые недоразвитые корни и чахлая листва. Механизм фитотоксичности Be связывают с угнетением ферментов (фосфатаз), а также со снижением всасывания ионов эссенциальных элементов. Коэффициент транслокации бериллия оценивают в 0,01–0,1 в зависимости от вида растений и свойств почв. Токсичность Be во всех средах резко возрастает при pH = 7 и ниже.

Бериллий токсичен для рыб. Величина $ЛК_{50}$ для разных видов пресноводных рыб колеблется от 0,15 до 32 мг/л при 96-часовой экспозиции. Токсичность Be возрастает с уменьшением жесткости воды. Так, для гуппи $ЛК_{50}$ в жесткой воде (450 мг/л карбоната кальция) составляет 19–32 мг/л, в мягкой воде (22 мг/л карбоната) на два порядка выше, $ЛК_{50}$ = 0,16 мг/л. Максимальная токсичность проявляется в мягкой подкисленной воде. Микроводоросли менее чувствительны к Be по сравнению с водными животными.

При содержании Be в воде до 1 мг/л вкус и прозрачность ее не изменяются. Резкое торможение процессов биохимического потребления O_2 наблюдается при концентрации Be 0,5–1 мг/л. Биохимическое окисление органических веществ и интенсивность развития бактерий при содержании бериллия 0,005 мг/л близки к контролю; концентрация 0,5 мг/л не задерживает процессы аммонификации и нитрификации; концентрация 0,1 мг/л является пороговой по влиянию на общий санитарный режим водоема.

Бериллий обладает высокой биологической активностью. Определяющее значение в токсическом действии имеет ион Be^{2+}, оказывающий общетоксическое, аллергическое, канцерогенное и эмбриотоксическое действие. Тестирование на мутагенную активность показало, что Be взаимодействует с ДНК и вызывает генные мутации, хромосомные аберрации, сестринский хроматидный обмен в культуре соматических клеток млекопитающих, хотя в испытаниях на бактериальных тест-системах мутагенный эффект не отмечался.

Общетоксическое действие Be обусловлено проникновением его в ядро и митохондрии клеток с длительной задержкой в клетке, что приводит к нарушению функционирования ряда ферментных систем и синтеза белков.

Для растворимых соединений бериллия характерно раздражающее действие. При вдыхании в легких развивается продуктивный межуточный процесс с формированием специфических гранулем. Заболевание такого рода получило название *бериллиоза.* Наблюдаются также изменения иммунологического состояния организма, активности многих ферментов, катализирующих энергетические процессы (фосфоглюкомутазы, энолазы, лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы и др.) в легких, печени, почках, мышечной и костной ткани. Наиболее выражены диспротеинемия в виде снижения альбумино-глобулинового коэффициента и дисбаланс некоторых микроэлементов в организме.

У крыс при ингаляции (1,8–9000 мкг/м^3) и при интратрахеальном введении (0,3–9 мг) растворимых и нерастворимых соединений бериллия, а также металлического Be, наблюдалось развитие злокачественных опухолей легких типа аденом и аденокарцином. Отмечены видовые различия для канцерогенного эффекта Be: обезьяны наиболее подвержены развитию рака легких, у кроликов, хомяков, морских свинок опухоли легких не наблюдались. О канцерогенном эффекте бериллиевой интоксикации свидетельствуют характерные изменения критического органа, появление низкомолекулярных белков, повреждение ДНК и РНК, обнаружение комплексных соединений.

Бериллий вступает в конкурентные, а иногда антагонистические взаимоотношения с ионами биологически важных металлов (Mg, Ca, Mn и др), являющихся естественными активаторами ферментов.

Бериллий характеризуется как сильное некротизирующее вещество с олигодинамическим типом действия, примечательно отсутствие корреляции между дозой и ответной реакцией организма. Растворимые соединения бериллия (хлорид, фторид, а также сульфат) токсичнее нерастворимых.

5.2.5. ЦИНК И МЕДЬ

Оба эти металла относятся к числу эссенциальных и в то же время наиболее распространенных элементов земной коры. Общее содержание цинка в ней составляет примерно $1{,}5 \cdot 10^{-2}$%, а кларк меди равен $4{,}7 \cdot 10^{-3}$%. Главными природными формами обоих металлов являются сульфидные минералы. В случае цинка это – сфалерит ZnS, а медь, входящая в состав более 200 минералов, в наибольших количествах представлена халькопиритом $CuFeS_2$, халькозином Cu_2S и ковеллином CuS. Промышленное значение имеют также и карбонаты – смитсонит $ZnCO_3$ и малахит $Cu_2(OH)_2CO_3$.

Как и в случае ртути, главный путь поступления этих элементов в гидросферу – микробиологическое и химическое выщелачивание из горных пород. Поведение и формы их существования в водных объектах зависят от конкретных условий. В водах с достаточным содержанием CO_2 устойчивыми оказываются гидрокарбонатные и карбонатные комплексы цинка $[Zn(HCO_3)]^+$, [Zп(COз)] и малахит. В слабокислой среде с pH 5,5–6,5 значительная часть меди и цинка входит в состав гидроксокомплексов $[Cu(OH)]^+$ и $[Zn(OH)]^+$. В результате гидролиза помимо них образуются моноядерные $[Cu(OH)_3]^-$, $[Zn(OH)_2]$ и полиядерные $[Cu_2(OH)_2]^{2+}$, $[Zn_2(OH)_6]^{2-}$ гидроксокомплексы.

При низких значениях Eh на первый план могут выступать сульфидные формы металлов. Такие условия формируются в застойных зонах эвтрофированных (богатых биогенными компонентами) водоемов, в которых происходит сначала бурное развитие фитопланктона, а затем его разложение с поглощением больших количеств растворенного кислорода и выделением H_2S. Такие явления характерны не только для озер и водохранилищ, но все чаще случаются в прибрежных районах морей и в эстуариях рек, выносящих большие количества органического вещества.

Цинк и медь образуют прочные комплексные соединения с органическими лигандами, причем по прочности комплексов с фульвокислотами медь занимает второе место после ртути. Доля комплексов с гумусовыми веществами при pH 5,0–6,0 невелика, однако она резко возрастает с увеличением pH. Соотношение между неорганическими и органическими комплексными соединениями зависит также от содержания в водах гумусовых веществ: неорганические формы цинка преобладают, если концентрации фульвокислот лежат ниже 3 мг/л, тогда как для полного связывания меди обычно достаточна концентрация этих лигандов на уровне 1 мг/л.

Наибольшие количества Zn и Cu поступают в живые организмы из водных объектов и с пищей. Избыток цинка вызывает у животных снижение содержания в печени меди. В свою очередь медь играет важную роль в метаболизме железа. Токсичность ее объясняется нарушением транспорта железа и образования гемоглобина. Медь остротоксична для большинства пресноводных организмов. Величина $ЛД_{50}$ для беспозвоночных обычно находится на уровнях концентрация меди менее 0,5 мг/л; ингибирование роста водных растений наблюдается при концентрациях меди порядка 0,1 мг/л.

5.2.6. АЛЮМИНИЙ

Алюминий относится к числу наиболее распространенных элементов литосферы и широко используемых человеком металлов. Общеизвестно его применение в качестве конструкционного материала в машиностроении и строительстве. Многие соединения алюминия используются в различных отраслях промышленности. Например, сульфат алюминия служит катализатором, применяется в целлюлозно-бумажной, деревообрабатывающей и кожевенной промышленности, в качестве коагулянта при очистке сточных вод и для осветления питьевой воды.

Промышленные предприятия сбрасывают значительные количества растворимых форм этого металла. Так, в стоках алюминиевых комбинатов его концентрации достигают 1000 мг/л, а в сточных водах предприятий по производству спиртов и фенолов – 800–1000 мг/л.

В почвах алюминий присутствует главным образом в составе четырех групп минералов: гиббсит $A1(OH)_3$ (микрокристаллический и аморфный), минералы с отношением Si : A1 = 1 : 2 (Al_2SiO_5), такие как имоголит и андалузит, минералы группы каолинита ($Al_2Si_2O_5$) с отношением Si : A1 = 1 : 1 и, наконец, минералы с отношением Si : A1 = 2 : 1 и брутто-формулой $Al_2Si_4O_{10}(OH)^{2-}$. Это – иллит, мусковит, монтмориллонит, пирофиллит и др.

Естественный цикл алюминия в почвах включает его переход из минералов в растворенные мономерные частицы. При достижении концентрации Al^{3+} на уровне 10^{-5} моль/л и pH почвенного раствора в интервале 5,4–6 происходит полимеризация с образованием водорастворимой полиядерной формы $A1_{13}O_4(OH)_{24}(H_2O)_{12}^{7+}$. Дальнейшая нейтрализация почвенного раствора (pH > 6) ведет к депротонизации $A1_{13}$ и осаждению с образованием алюмосиликатных и других минералов .

В этот цикл включается лишь очень небольшая часть содержащегося в почвах алюминия. Однако ситуация коренным образом изменяется при регулярном закислении почв, приводящем к *ускоренному* растворению алюминийсодержащих минералов, обогащению алюминием почвенных растворов, переходу его из верхних горизонтов почвенного профиля в нижние и в поверхностные воды.

Одной из главных причин перехода алюминия из почв в дренирующие воды является выпадение кислотных дождей. Закисление сельскохозяйственных почв происходит также вследствие регулярного внесения аммонийных удобрений, поскольку ионы NH_4^+ быстро окисляются в процессах микробиологической и химической нитрификации:

$$NH + 2O_2 \rightarrow NO + H_2O + 2H^+ .$$

При норме внесения в обрабатываемые почвы 50–200 кг N/га вклад нитрификации в их закисление в 4–16 раз больше, чем вследствие осаждения из атмосферы H_2SO_4 и HNO_3. При этом поступление ионов водорода сильно зависит от типа удобрений. Например, при внесении 70 кг/га азота в форме

$(NH_4)_2SO_4$ в почве образуется примерно 7700 г-ион H^+, тогда как при нитрификации эквивалентных количеств NH_4NO_3 или мочевины $CO(NH_2)_2$ образуется примерно 2500 г-ион H^+.

Алюминий, имеющий большой заряд иона и малый ионный радиус, очень реакционноспособен. В кислых почвах с pH < 5,0 происходит растворение как первичных, так и вторичных минералов с переходом алюминия в почвенные растворы. Его концентрации в таких растворах зависят от pH, количества и типа минералов, интенсивности обменных реакций с другими неорганическими компонентами почв и от содержания в них органических соединений со свойствами комплексообразователей. Возможные растворимые формы неорганических соединений алюминия в почвах приведены ниже:

$$Al^{3+} + OH^- \Leftrightarrow AlOH^{2+} \qquad Al^{3+} + F^- \Leftrightarrow AlF^{2+}$$

$$Al^{3+} + 2OH^- \Leftrightarrow Al(OH)_2^+ \qquad Al^{3+} + 2F^- \Leftrightarrow AlF_2^+$$

$$Al^{3+} + 4OH^- \Leftrightarrow Al(OH)_4^- \qquad Al^{3+} + 3F^- \Leftrightarrow AlF_3$$

$$Al^{3+} + SO_4^{2-} \Leftrightarrow Al(SO_4)^+ \qquad Al^{3+} + 4F^- \Leftrightarrow AlF_4^-$$

$$Al^{3+} + 2SO_4^{2-} \Leftrightarrow Al(SO_4)_2^- \qquad 2Al^{3+} + 2OH^- \Leftrightarrow Al_2(OH)_2^+$$

$$3Al^{3+} + 4OH^- \Leftrightarrow Al_3(OH)_4^{5+}$$

$$13Al^{3+} + 28OH^- \Leftrightarrow Al_{13}(OH)_{24}^{7+} + 4H^+$$

Соотношение между этими формами зависит прежде всего от ионной силы почвенного раствора, относительной концентрации лигандов и прочности образуемых с их участием комплексов.

В частности, важным комплексообразующим агентом является флюорит: в растворах с низкими значениями pH формы AlF^{2+} и AlF_2^+ часто доминируют. Кроме того, алюминий образует прочные комплексы с гуминовыми и фульвикислотами.

Полевые исследования показывают, что более 75% экстрагируемого органического вещества почв представлено комплексами. В качестве важных лигандов выступают также анионы одноосновных (муравьиная, уксусная) и многоосновных (щавелевая, малоиовая, лимонная) кислот, всегда присутствующих в природных почвах. По своей способности образовывать комплексы с алюминием органические кислоты превосходят неорганические лиганды. Считается, что моновалентные комплексы алюминия с низкомолекулярными органическими кислотами играют важную роль в миграции этого металла, в том числе вниз по почвенному профилю.

Средние концентрации алюминия в водах большинства озер Северного полушария составляют сейчас 0,13 мг/дм^3, а в реках – 0,70 мг/ дм^3. Формы нахождения алюминия в водах определяются амфотерностью его гидроксида, склонностью к полимеризации соединений и к включению в состав комплексов. Наиболее токсичными для водных организмов являются формы:

$Al(OH)^{2+}$ и $Al(OH)_2^+$, превалирующие в водах с pH между 5,0 и 5,5. Полулетальные концентрации ($ЛК_{50}$) таких мономерных неорганических форм для многих пресноводных рыб лежат в пределах 0,1–0,3 мг/дм^3. Гибель рыбы и икры часто связывают также с образованием полимеров гидрооксида алюминия, осаждающихся на жабрах и на поверхности икринок.

Алюминий токсичен и для растений, хотя вызываемое его соединениями угнетение корневой системы проявляется при довольно высоких концентрациях в почвенных растворах. В табл. 5.10 приведены ответные реакции культурных растений на содержание растворенного алюминия в почвах. Различные виды и даже *разные* сорта культурных растений демонстрируют различную устойчивость по отношению к токсическому действию подвижных форм алюминия. Однако механизм этой устойчивости до конца не выяснен. Среди имеющихся гипотез относительно воздействия алюминия можно назвать, например, связывающую устойчивость растений с сорбционной способностью их корней по отношению к катионам с разными зарядами. Известно, что одни из них потребляют больше моновалентных катионов K^+ и Na^+, тогда как другие требуют больше Ca^{2+} и Mg^{2+}. Последние, как правило, более чувствительны к присутствию в почвах биодоступного алюминия.

Таблица 5.10

Ответные реакции растений на содержание подвижного алюминия в почвах (Исидоров, 1999)

Содержание обменных форм алюминия в почве, мг/кг	Реакция растений
<20	Ответная реакция не регистрируется
20–40	Изменение минерального состава растительных тканей. Увеличение потребления K и Mn.
40–60	Снижение содержания Ca, Mg и P. Внешние симптомы отсутствуют
60–80	Появление симптомов дефицита Ca, Mg и P у чувствительных к Al^{3+}растений
80–100	У чувствительных растений не формируются генеративные органы. Появляются симптомы дефицита Ca, Mg и P у толерантных к алюминию растений
100–120	Чувствительные растения погибают. У толерантных не развиваются генеративные органы. Начинают преобладать виды растений, индикаторные для кислых почв (конский щавель и др.) Культурные растения заменяются типичными для сильнокислых почв индикаторными видами.
120–140	Симптомы дефицита P и Mg у индикаторных видов
>140	Полное исчезновение растительности

В настоящее время имеется слишком мало информации для вывода о способности алюминия к биоконцентрированию и передаче по пищевым цепям. Мало также данных о его поступлении в организм человека с питьевой водой и продуктами питания, хотя необходимость такой информации очевидна, поскольку установлено нейротоксическое действие этого элемента.

ЧАСТЬ II

МЕТОДЫ ТОКСИКОМЕТРИИ

Глава **6. Методы оценки острой токсичности экотоксикантов**

Глава **7. Методы оценки кумулятивного и комбинированного действия экотоксикантов**

Глава **8. Методы биологического тестирования экотоксикантов**

ВВЕДЕНИЕ

Токсикометрия, или измерение токсичности, занимает центральное место среди разделов токсикологии. Сам термин «измерение» указывает на необходимость применения количественных методов оценки биологической активности химического соединения, способного вызвать различные формы токсического эффекта. Все эти методы, так или иначе, должны ответить на вопрос, какое *количество* химического вещества, взаимодействующего с организмом, способно вызывать токсический эффект? Для этого токсикометрия призвана разрабатывать совершенные методы количественной оценки токсичности – это ее теоретическая составляющая. В свою очередь, в рутинной профессиональной деятельности токсикологи применяют эти методы в практических целях. Универсальных методов количественной оценки токсичности нет, поскольку каждый метод характеризуется своими особенностями, например, экспресс-методы могут давать менее точные результаты, тогда как более точные методы могут быть и более сложными в вычислительном аспекте. Однако мы считаем, что будущему токсикологу полезно познакомиться с линейкой существующих методов оценки токсичности.

Следует подчеркнуть, что в реальных условиях (особенно производственных) организм, как правило, подвергается воздействию не одного токсического агента (изолированное действие), а целой группы, эффекты которых могут взаимно усиливать (синергизм) или ослаблять (антагонизм) друг друга и тогда говорят о комбинированном действии вредных химических веществ. Не менее важное значение имеет и наличие кумулятивных свойств у вредных химических веществ, играющих ведущую роль в проявлении хронической токсичности. Умение оценить комбинированное и кумулятивное действие экотоксикантов – необходимое условие подготовки токсиколога.

Завершает вторую часть книги глава, посвященная методам биологического тестирования экотоксикантов. Биотестирование является существенным и необходимым дополнением аналитическим методам контроля, а в целом ряде случаев, например при установлении класса опасности отходов, и незаменимым.

Глава 6

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЭКОТОКСИКАНТОВ

Широкое использование химических веществ в производстве и обыденной жизни вызывает нарастающее беспокойство в связи с возможностью их вредного влияния на здоровье людей и окружающую среду Широкомасштабное загрязнение окружающей среды привело к необходимости токсикологического контроля воздуха, воды, почвы, продуктов сельскохозяйственного производства. Токсикология занимается изучением как природы и механизма токсических повреждений, так и количественной оценкой всего спектра биологических изменений, обусловленных воздействием химических веществ. Первоочередной целью токсикологических исследований является определение действия химического вещества на биологические системы и получение данных о зависимости «доза – эффект» для данного вещества. Эти данные могут обеспечить информацию о степени опасности вещества для человека и окружающей среды, связанной с его возможным воздействием при конкретном использовании[6].

6.1. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЭКСПЕРИМЕНТ И ЕГО ПОДГОТОВКА

6.1.1. УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

В настоящее время разработаны различные виды методов оценки токсичности химических веществ, включающие острые, подострые и хронические исследования. Основное различие между ними состоит в применяемых дозах и продолжительности воздействия химического вещества.

Острой называется интоксикация, развивающаяся в результате однократного или повторного действия веществ в течение ограниченного периода времени (как правило, до нескольких суток).

Подострой называется интоксикация, развивающаяся в результате непрерывного или прерываемого во времени (интермитирующего) действия токсиканта продолжительностью до 90 суток.

[6] Материалы этой главы основаны на работах известных отечественных токсикологов Беленького (1963), Голубева и др. (1973), Саноцкого (1970), Елизаровой (1970, 1974), И.П. Западнюка и др. (1983), Куценко (2002), а также в издании ВОЗ «Принципы и методы оценки токсичности химических веществ» (1981), в которых подробно описаны методы определения токсичности. К сожалению, эти работы, изданные достаточно давно и небольшими тиражами, стали библиографической редкостью.

Хронической называется интоксикация, развивающаяся в результате продолжительного (иногда годы) действия токсиканта.

Спектр проявлений токсического процесса, определяется строением токсиканта. Однако выраженность развивающегося эффекта является функцией количества действующего агента. Для обозначения количества вещества, действующего на биологический объект, используют понятие «доза». Например, введение в желудок крысе весом 250 г и кролику весом 2000 г токсиканта в количестве 500 мг, означает, что животным введены дозы равные соответственно 2 и 0,25 мг/кг. Зависимость «доза – эффект» может быть прослежена на всех уровнях организации живой материи: от молекулярного до популяционного. При этом в подавляющем большинстве случаев будет регистрироваться общая закономерность: с увеличением дозы – увеличивается степень повреждения системы; в процесс вовлекается все большее число составляющих её элементов. В зависимости от действующей дозы практически всякое вещество в определенных условиях может оказаться вредным для организма.

На проявление зависимости «доза – эффект» оказывает существенное влияние внутри- и межвидовая изменчивость организмов. Действительно, особи, относящиеся к одному и тому же виду, существенно отличаются друг от друга по биохимическим, физиологическим, морфологическим характеристикам. Эти отличия в большинстве случаев обусловлены их генетическими особенностями. Еще более выражены, в силу тех же генетических особенностей, межвидовые различия. В этой связи дозы конкретного вещества, в которых оно вызывает повреждение организмов одного и того же и, тем более, разных видов, порой очень существенно различаются (табл. 6.1).

Таблица 6.1

Токсичность 2, 3, 7, 8-тетрахлодибензопарадиоксина (ТХДД) для разных видов животных

Вид животного	$ЛД_{50}$, мкг/кг
Морская свинка	0,6–2,5
Норка	4
Крыса	22–45
Обезьяна	менее 70
Кролик	115–275
Мышь	114–280
Собака	менее 300
Лягушка–бык	менее 500
Хомяк	5000

Следовательно, зависимость «доза – эффект» отражает свойства не только токсиканта, но и организма, на который он действует. На практике это означает, что количественную оценку токсичности, основанную на изучении зависимости «доза – эффект», следует проводить в эксперименте на различных биологических объектах и обязательно прибегать к статистическим методам обработки получаемых данных.

Каждый из методов требует, чтобы группы здоровых лабораторных животных, содержащиеся при соответствующих условиях, подвергались воздействию градированных доз исследуемого вещества. Для этих целей используются крысы, мыши, морские свинки, кролики, хомячки, но в некоторых случаях может возникнуть необходимость включения в исследование других видов животных. Как правило, контрольная группа животных получает растворитель (носитель исследуемого вещества) или инертное вещество. После воздействия вещества тщательно наблюдают за появлением признаков его токсичности. Лабораторные методы, имеющие целью определение характера биологического действия исследуемого вещества, выполняются на опытных и контрольных группах животных. Все данные в отношении каждого животного подробно записываются. По завершении исследования все животные, в том числе и контрольные, подлежат патоморфологическим исследованиям. Полученные данные должны быть проанализированы при помощи соответствующих статистических методов. Острая токсичность определяется как вредное действие, проявляющееся в течение короткого периода после введения разовой дозы или многократных доз, вводимых в течение суток. Исследование острой токсичности направлено на установление количественных параметров токсичности данного химического соединения, изучение характера его действия и специфического токсического эффекта, а также на установление существующих видовых и половых различий в чувствительности к токсическому агенту.

Наиболее часто используемые тесты на острую токсичность включают определение средней летальной (смертельной) дозы ($ЛД_{50}$) соединения. $ЛД_{50}$ определена как «статистически полученное выражение разовой дозы вещества, которая вызывает гибель 50% животных». Основная методическая схема установления $ЛД_{50}$ хорошо разработана и состоит в затравке групп животных математически связанной серией доз для определения дозы, вызывающей гибель 50% животных опытной группы, путем определения функции «доза – ответ». Поскольку величина $ЛД_{50}$ определяется путем расчетов, она обычно включает и какую-то оценку ошибки, например доверительных границ. Гибель, наблюдаемая после первых 24 часов, с наибольшей вероятностью обусловлена отдельными токсическими эффектами, которые могут быть прямыми или косвенными. Признаки, появляющиеся после 24 часов, могут дать некоторое представление об эффекте, которое вещество может иметь при более низких уровнях, если оно вводится в течение более длительного отрезка времени. Гибель животных после однократного воздействия вещества может наступить не сразу: сроки смерти зависят от механизма действия вещества, поэтому в промышленной токсикологии принято наблюдать за животными в течение 14 суток.

Если вещество не обладает выраженной токсичностью, то определить смертельные дозы, даже вводя максимально возможные объемы вещества, не удается. В таких случаях, чтобы получить примерные сведения о верхних параметрах токсичности, продолжают ежедневное введение возможно большей дозы, регистрируя время гибели животного и суммарное количество введенного токсического вещества. Оценка результатов производится на основании среднего эффективного времени гибели животных. Следует отметить, что при

использовании этого метода не требуется достижения гибели всех животных группы.

Пороговая, или минимальная, токсическая доза при однократном введении токсического вещества определяет нижнюю зону острой токсичности вещества. Но уловить те слабые функциональные изменения, которые характеризуют пороговое действие, нелегко. В таких случаях наиболее применимы интегральные методики, о которых будет сказано ниже.

При выявлении верхнего параметра токсичности следует учитывать, как быстро наступают симптомы отравления и смерть. Эти наблюдения могут в какой-то степени характеризовать токсикодинамику вещества. Обычно можно разграничить несколько стадий острого отравления: 1) скрытая стадия, которая продолжается от момента введения яда до первых признаков действия его на организм; 2) продромальная стадия, характеризующаяся начальными, неясными и нетипичными явлениями; 3) стадия нарастания отравления; 4) стадия высшего развития, когда все симптомы отравления, представляющие характерную для данного яда картину, достигают наибольшей силы.

Эта стадия заканчивается гибелью животного или переходит в пятую стадию разрешения, когда начинается явное спадание действия токсического вещества.

При действии больших доз, когда смерть наступает почти моментально или в очень короткие сроки, выявить отдельные стадии отравления не представляется возможным.

В ряде случаев после отравления, иногда даже однократного, можно отметить, так называемое метатоксическое действие яда. Под этим термином понимают наличие более или менее отдаленных последствий отравления, не связанных с непосредственным действием яда. Показательным примером может служить поражение почек, обнаруживаемое спустя длительное время после перенесенного отравления сулемой.

При изучении картины острой интоксикации учитывают время развития отравления, сроки гибели животного, а при выживании – быстроту восстановления функций организма.

При проведении токсикологического эксперимента многое зависит от умения экспериментатора наблюдать за животными, за появлением тех или иных симптомов отравления, чтобы, суммировав их, выявить характерное действие яда.

Воздействие токсических веществ оценивают по изменению внешнего вида, состояния и поведения животных: наблюдают за двигательной активностью и координацией движений (характер походки, сохранение равновесия и т. д.), выявляют наличие тикообразных движений головы, тремора, судорог, характера судорог (клонические, тонические), парезов и параличей, определяют тонус мускулатуры путем пальпации различных групп мышц животного, выявляют реакции животного на звуковые, тактильные и болевые раздражители.

Токсические вещества в начале своего действия часто вызывают у животных явления возбуждения центральной нервной системы, как правило, сопровождающиеся повышенной двигательной активностью. Животные усиленно, часто беспорядочно, двигаются, прыгают, бросаются на стенки клетки. Иногда наблюдаются явления стереотипии, например, мыши бегают по кругу, крысы вращаются вокруг своей оси, как бы «вальсируют». На незначительные

раздражения животные отвечают резко повышенной реакцией, вплоть до агрессивной. У мышей иногда наблюдается симптом Штрауба: мышь держит хвост вертикально, «трубой», за счет гипертонуса приводящих мышц, что свидетельствует о распространении возбуждения на нижележащие области центральной нервной системы, в частности спинной мозг. Походка у животных становится шаткой, движения нескоординированными. Начинаются судорожные явления. Явления возбуждения нередко сменяются угнетением центральной нервной системы. Явления угнетения, в зависимости от механизма действия яда, могут возникнуть и с самого начала отравления, без предварительного периода возбуждения. Животные перестают двигаться, иногда как бы «застывают» на месте, сбиваются в кучку. Реакция на раздражители сначала понижается, а затем животные вообще перестают реагировать на какие бы то ни было раздражители, в том числе и болевые. Наступает так называемое «боковое положение». В некоторых случаях, когда тонус мышц повышен, животным можно придавать любое, даже неестественное положение. Боковое положение может переходить в коматозное состояние.

На основании изучения поведения животных выясняется картина возбуждающего или угнетающего действия яда на центральную нервную систему. Возможно даже примерно определить ту часть нервной системы, которая задета действием исследуемого вещества.

По поведению животных можно судить также о некоторых свойствах токсических веществ. Так, о раздражающем действии введенного вещества свидетельствуют общее беспокойство животных, потирание лапами мордочки, встряхивание головой, появление слюноотделения и т. д. При резком раздражении желудочно-кишечного тракта животные ползают, прижимаясь брюхом к полу, и скребут лапами. При действии некоторых ядов наблюдается выпячивание глазных яблок (экзофтальм), резкое расширение или сужение зрачка.

Изменение цвета кожных покровов часто является характерным признаком яда. Например, карбонилы металлов, попадая в организм, отщепляют от своей молекулы окись углерода, вызывающую образование карбоксигемоглобина. Последний придает крови, а следовательно, и кожным покровам, и внутренним органам, алый цвет. Наоборот, при действии ядов, вызывающих гипоксемию, наблюдается посинение слизистых и кожных покровов. Резкое сокращение просвета периферических сосудов под действием токсических агентов вызывает побледнение кожи.

Одним из наиболее постоянных симптомов отравления служит изменение дыхания. Изменяется глубина дыхания и его ритм. Одно из типичных нарушений ритма дыхания характеризуется тем, что после нескольких иногда все углубляющихся дыхательных движений наступает дыхательная пауза, продолжающаяся 5–10 секунд. Затем опять следует несколько дыханий, опять пауза и так далее (так называемое дыхание Чейн – Стокса).

Изменяются количественные показатели – дыхание может настолько ускориться, что его трудно визуально сосчитать, или, наоборот, замедляется так, что его, например, легко учесть у мышей, у которых в норме визуально определить частоту дыхания трудно.

Изменение сердечной деятельности также служит ярким показателем действия яда. Часто, особенно при введении токсических веществ в желудок, преобладают патологические явления со стороны желудочно-кишечного трак-

та (рвота, понос, запор, отказ от еды и т.п.). Следует обращать внимание на изменение цвета, консистенции, частоты испражнений. У мышей подсчитывают количество дефекаций за один или два часа. Имеют значение изменения мочи, частота мочеотделения.

Учет данных, полученных при наблюдении за отравленными животными, позволяет определить характерные особенности в действии токсического вещества.

Выявление макроскопических патологических изменений в большинстве случаев может осуществляться опытным лаборантом под руководством патологоанатома. Следует придерживаться определенной схемы проведения вскрытия, уметь распознавать отклонения от нормы и проверять себя по специальному контрольному списку, чтобы не пропустить органы и ткани, подлежащие анатомированию и осмотру. В лаборатории должна быть в наличии информация о клинических проявлениях токсичности. Найденные отклонения следует регистрировать в картах вскрытия, ясно и подробно описывая локализацию, размер и цвет, строение, количество и прочие детали.

Значительная часть поражений будет находиться в диапазоне известных отклонений для используемых видов и линий животных. Поражения, наблюдаемые за пределами этих отклонений, всегда должны быть исследованы самим патологоанатомом. Рекомендуется фотографировать все новые поражения, особенно те, которые предположительно вызваны воздействием изучаемого вещества.

Погибших животных обязательно следует подвергать вскрытию, если только этому не мешают случаи каннибализма или автолиза, хотя автолиз не должен во всех случаях служить причиной невыполненного вскрытия. Плохо выполненное макроскопическое обследование не может быть заменено микроскопическим изучением. Тщательное макроскопическое обследование может дать оптимальную информацию для микроскопических исследований и в отдельных случаях может облегчить проведение избирательного микроскопического исследования. Известен ряд способов умерщвления животных. Эти методы зависят от имеющихся средств, целей эксперимента и использованного вида животных. Широко используется умерщвление животных при помощи наркоза (эфиром или барбитуратами), а также удушение двуокисью углерода. Обескровливание у грызунов может производиться посредством пункции сердца или брюшной аорты, у собак – чаще всего пункции сонной артерии. В качестве альтернативного способа для мелких грызунов может применяться декапитация, хотя это может привести к аспирации крови в легочную ткань и повреждению отдельных тканей и органов. С другой стороны, декапитация, вероятно, дает более постоянные результаты в отношении общей потери крови и, следовательно, позволяет получать довольно постоянные весовые показатели органов. Для умерщвления мышей часто пользуются методом цервикальной дислокации (дислокации шейных позвонков).

6.1.2. СПОСОБЫ ВВЕДЕНИЯ ТОКСИКАНТОВ

Токсичность химических соединений зависит от ряда моментов: химической структуры вещества, его физико-химических свойств, условий воздействия на организм (доза, концентрация, время действия и т. д.). Большое значение имеет путь введения изучаемого вещества: ингаляционный – с вдыхае-

мым воздухом; пероральный – введение в желудок (через рот – per os); перкутанный – поступление через кожу; внутримышечный, внутрибрюшинный, внутривенный, внутрикожный и др. Каждый путь имеет свои особенности, которые необходимо учитывать при проведении токсикологического эксперимента, так как эффект при различном поступлении вещества может быть различным. Скорость всасывания вещества при различных способах введения неодинакова. Не идентичной может быть и клиническая картина отравления при действии токсиканта, поступающего в организм различными путями.

Пероральный путь. Более подробно рассмотрим действие токсикантов, вводимых перорально – способом, наиболее часто применяемом для установления параметров токсикометрии и класса опасности химических соединений. Проходя через пищеварительный тракт, химические соединения встречаются в различных отделах со средой, характеризующейся особым ферментным составом. Вещества, не растворяющиеся в кислой среде, могут проходить, не всосавшись, через желудок, но всасываться в щелочной среде кишечника. Многие яды в биологических средах желудочно–кишечного тракта растворяются лучше, чем в воде, в связи с этим увеличивается и их всасывание. Вместе с тем имеется достаточно примеров, когда химическое соединение, попав в желудок, полностью теряет токсичность или она значительно уменьшается. Яркими примерами служат кураре, яды змей и насекомых.

Быстрота и сила действия токсического вещества, попавшего в желудок, во многом зависит от степени наполнения желудка пищевой кашицей и ее характера[7]. В пустом желудке вещества сразу вступают в непосредственный контакт со слизистой желудка, вследствие чего всасываются быстрее.

На быстроту и силу действия токсических веществ могут заметно влиять различные изменения внешних условий, отражающиеся на процессах всасывания в желудочно-кишечном тракте (температура, давление, влажность воздуха).

Большое значение имеет и общее состояние организма. Известно, что при многих заболеваниях всасывание в желудке и кишечнике резко уменьшается.

Из желудочно-кишечного тракта токсическое вещество распространяется по лимфатической и кровеносной системам в различные органы. Важную роль в превращении и обезвреживании ядов играет печень, особенно ферменты микросомальной фракции. Благодаря антитоксической барьерной роли печени ряд токсических веществ теряют или уменьшают свое отравляющее действие.

Токсические вещества можно вводить перорально в их чистом виде, в растворах, эмульсиях, суспензиях или с пищей и питьевой водой.

При введении веществ в чистом виде имеется уверенность, что наблюдаемое действие зависит именно от исследуемого вещества, а не от растворителей или каких-либо других побочных примесей. В этом случае можно точно дозировать вводимое вещество.

---

[7] Известно, что сахара превращают цианиды в относительно безвредные циангидрины (оксинитрилы). Вероятно, из-за неустойчивости цианидов не удалось отравить Г. Распутина, поскольку он проглотил «лошадиную дозу» цианидов с пирожными и вином.

К растворам химических соединений прибегают в тех случаях, когда приходится манипулировать с очень малым количеством вещества (0,01 мл и меньше), или если вещество обладает раздражающим действием и это явление надо уменьшить, чтобы выявить характерное влияние данного вещества на весь организм, а не только на слизистые оболочки пищеварительного тракта. В растворы вводят также тягучие смолообразные жидкости, которые в чистом виде прилипают к стенкам лабораторного оборудования.

Растворитель может сам по себе изменить скорость и силу действия яда. Чем концентрированнее раствор, тем в большем количестве он всасывается и проявляет большую токсичность. Наоборот, всасываясь в сильно разведенном виде, в ряде случаев токсические вещества успевают в организме обезвредиться. Поскольку скорость всасывания многих веществ главным образом зависит от концентрации, а не от объема, для получения сопоставимых результатов более целесообразно вводить несколько отличающиеся количества вещества, но в одинаковой концентрации.

Характер растворителя также далеко не безразличен. Лучше всего в качестве растворителя использовать воду, так как она сама по себе не вызывает токсического действия и всасывание в желудочно-кишечном тракте при этом не нарушается.

За последнее время для стандартизации токсикологических приемов предлагается использовать рафинированное растительное масло. Однако большие объемы его могут не всосаться, а эвакуироваться вместе с испытуемым веществом через кишечник. Если вещества (как жидкие, так и твердые) не растворяются в воде или масле, то их вводят в виде эмульсии или суспензии. Эмульгаторы рекомендуется применять с большей осторожностью, так как они обладают токсическим действием, хотя и слабо выраженным. В качестве эмульгатора может служить 1–2%-ный раствор крахмала. Исследуемое вещество смешивают с раствором крахмала в определенных соотношениях (1:1, 1:5, 1:10). Соотношение зависит от физико-химических свойств исследуемого вещества и выявляется экспериментальным путем. В этиловом спирте растворяются многие химические соединения. Однако сам по себе этанол может изменить эффект исследуемого вещества. Следует учитывать, что спиртовые растворы ядов всасываются в желудке быстрее, чем растворы водные, и особенно масляные.

Изучаемые вещества вводят непосредственно в ротовую полость, в желудок через зонд, а также с пищей или питьевой водой. Выбор каждого из этих способов обуславливается физико-химическими свойствами изучаемого вещества. Малые количества изучаемого вещества можно вносить непосредственно в ротовую полость. Введение химических веществ с пищей и питьевой водой является наиболее физиологичным способом. Одноразового переполнения желудка не наступает, а пища или вода поступает в желудок постепенно. Однако в этих случаях труднее учитывать количество поступившего в организм вещества.

Исследуемые вещества вводят животным до кормления, натощак, лишая корма за 4 часа до опыта. Кормить экспериментальных животных следует через 4 часа после воздействия.

Введение в желудок производится при помощи различных зондов – металлических, стеклянных, пластмассовых или резиновых. При введении зонда следует избегать малейшего насилия: зондом можно поранить стенки глотки, пищевода, желудка.

Большое количество вводимой жидкости, особенно если оно производится повторно, нарушает водный обмен и вызывает ряд патологических симптомов Принято считать, что наиболее физиологичным является введение растворов в минимальных количествах, в объемах, не превышающих 1–1,5% массы.

Максимальное количество жидкости, которое можно ввести голодному животному за один прием, соответствует вместимости его желудка, что в свою очередь зависит от величины животного.

Объем вводимой жидкости зависит от величины животных: мышам вводят ≤ 1,0 мл (0,3–0,8 мл), крысам ≤5,0 мл, морским свинкам ≤ 4–6 мл, кроликам ≤ 50–100 мл. Введение с водой и пищей применяют в хронических опытах, когда условия эксперимента должны быть максимально физиологичными.

Ингаляционный путь. Этот способ является основным при испытаниях веществ, являющихся загрязнителями атмосферного воздуха и воздуха рабочей зоны. Ингаляционная затравка осуществляется в специальных камерах, обеспечивающих надежную защиту воздушной среды помещения и обслуживающего персонала от воздействия испытуемого вещества. При ингаляции применяют два метода – статический и динамический. При первом воздух в хорошо герметизированной камере не меняется, при втором в камерах обеспечивается непрерывная смена воздуха с помощью соответствующего вентиляционного оборудования.

В опытах по ингаляционному воздействию используют следующие ксенобиотики: химические соединения, неотвержденные полимеры и содержащие их продукты, биологические препараты и пыль отвержденных полимеров.

Парентеральный путь. Способ введения ксенобиотиков, минуя пищеварительный тракт, т.е. накожно, подкожно, внутримышечно, внутривенно. Многие химические вещества, вытяжки из неотвержденных полимеров и содержащие их продукты обладают местным кожным раздражающим и кожно-резорбтивным (способность вещества всасываться через неповрежденные кожные покровы) действием. Известно несколько вариантов опытов по оценке опасности накожного пути поступления ксенобиотиков. Остановимся на наиболее доступных и легко воспроизводимых в лабораторных условиях. Биологически активные вещества в виде растворов или вытяжек чаще вводят внутрибрюшинно или внутримышечно. Изучаемые вещества инъецируют в мышцу или брюшную полость животного. В брюшную полость можно ввести 5 мл – крысам и 2 мл – мышам; а внутримышечно соответственно 5 мл и 0,5 мл жидкости.

Исследование местного действия химических соединений – опыты по оценке местного действия ксенобиотиков – ставят на предварительно выстриженной (за сутки до начала опыта) коже кролика, крысы или морской свинки. Вещество наносят в жидком виде (или в виде эмульсии) в количестве 0,5 мл на участок кожи кролика размером 4х5 см, морской свинки и крысы – 2х2 см.

В качестве растворителя (при невозможности нанесения на кожу вещества в нативном состоянии, что предпочтительнее) рекомендуется использовать водные, водно-спиртовые или ацетоновые растворы. Накожные аппликации следует проводить ежедневно стеклянной палочкой, микропипеткой на предварительно выстриженную боковую поверхность туловища животного. Доза вещества рассчитывается исходя из веса капли или числа капель в 1 мл раствора. За животным наблюдают в течение 10 суток. Регистрируют время появления отека, инфильтрата. Утолщение кожной складки определяют с помощью микрометра, температуру кожи – медицинским термометром и т.п. В дальнейшем наблюдают за появлением дерматита, некроза, образованием корок, шелушением, пигментацией, ростом волос. При отсутствии кожных изменений после однократного воздействия делают повторные нанесения вещества в течение 10 дней. Известно, что кожа брюшка животных несколько более чувствительна, чем кожа спинки. Также различаются по чувствительности участи кожи грудного, брюшного и поясничного отделов.

Оценка кожно-резорбтивного действия. Многие химические вещества, особенно хорошо растворяющиеся в жирах и липоидах, могут проникать через неповрежденную кожу, оказывая кожно-резорбтивное действие. По своей проницаемости кожа человека близка к коже хвоста крыс и мышей. Животных помещают в специальные домики – фиксаторы движений, находящиеся в вытяжном шкафу, с таким расчетом, чтобы голова животного была снаружи. Хвост животных на 2/3 длины опускают в пробирку, куда налито испытуемое вещество. Пробирки обычно помещаются в баню, где поддерживается температура 28–30°С. Экспозиция опыта составляет для мышей – 2 ч, для крыс – 4 ч. Этот метод применяют как ориентировочный, так как он не дает возможности провести количественную оценку.

Оценка местного действия веществ на слизистые оболочки глаз. Опыты проводят на одном кролике, путем внесения в конъюнктивальный мешок одного глаза кролика исследуемое вещество, во второй глаз (контрольный) вводят физиологический раствор в равном объеме. Регистрируют изменение слизистых оболочек глаза (гиперемия, отечность, помутнение, язвы роговицы и т.п.).

6.1.3. ВЫБОР И ПОДГОТОВКА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ К ЭКСПЕРИМЕНТУ

Для экспериментальных исследований в токсикологических лабораториях используют крыс линии Вистар (Wistar) или белых беспородистых крыс, которые являются альбиносами черной (*Rattus rattus*) и серой (пасюк – *Rattus norvegicus*) пород, а также белых мышей *Mus musculus*, которые являются альбиносами серой домашней мыши. И крысы, и мыши принадлежат к одному и тому же отряду грызунов (Rodentia) семейству мышиных (Muridae).

Прежде чем начать токсикологический эксперимент, необходимо четко определить задачу исследования, выбрать объект исследования (вид животных), метод введения вещества, установить длительность опыта.

Выбор животных для эксперимента является весьма ответственным моментом. В первую очередь учитываются такие факторы, как видовая чувствительность, возраст и пол животных. Под видовой чувствительностью понимают неодинаковое отношение животных различных видов к одному и тому же яду.

Исходя из наибольшего соответствия в биохимических процессах организмов мышей и крыс с человеком, а также, принимая во внимание небольшую продолжительность жизни названных животных (что позволяет производить хронические эксперименты, сопоставимые по времени с жизнью человека), при определении показателей токсикометрии рекомендуется производить опыты не менее чем на двух видах животных, а именно лабораторных мышах и крысах. Полезность определения видовой вариабельности продиктована тем, что если токсичность вещества одинакова для различных видов животных, то вероятность того, что человек будет реагировать на него аналогичным образом, возрастает.

Определение среднесмертельной дозы должно проводиться как на самцах, так и на самках, поскольку у них прослеживается разница в величинах $ЛД_{50}$, которая, вероятно, частично может быть обусловлена различиями в метаболизме вещества в печени животных разного пола. Наиболее отчетливо выражены различия в чувствительности самцов и самок к токсикантам у грызунов. Однако выявляемые закономерности справедливы для других млекопитающих и человека. Основная причина феномена – особенности токсикокинетики ксенобиотиков. Так, кожа спины самок крыс примерно в два раза более проницаема для мочевины, бензойной кислоты и кортизона, чем кожа самцов. Существенно различны скорость и характер метаболизма чужеродных соединений. Микросомы, выделенные из гепатоцитов самцов имеют примерно в два раза большее сродство к гексобарбиталу и амидопирину (но не анилину), в сравнении с микросомами печени самок. В этой связи продолжительность действия барбитуратов на самцов меньше, чем на самок.

Различия токсичности веществ, связанные с полом, у человека выражены слабо. Вместе с тем процесс резорбции некоторых веществ проходит с разной скоростью. Так, у женщин в желудочно-кишечном тракте хуже всасывается салициловая кислота. Ксилокаин хуже, а диазепам лучше связывается с белками крови женщин, чем мужчин. У женщин, как правило, больше жировой ткани, что сказывается на характере распределения гидрофильных и гидрофобных ксенобиотиков. Активность некоторых энзимов, метаболизирующих чужеродные соединения у мужчин и женщин неодинакова. Так, активность эстеразы ацетилсалициловой кислоты у мужчин выше, а моноаминоксидазы – ниже.

В процессе индивидуального развития человека и животных выделяют эмбриональный, фетальный, перинатальный, неонатальный, а также периоды созревания, зрелого возраста и старости. Чувствительность организма к токсикантам в эти периоды различна. Поэтому острая токсичность также существенно меняется с возрастом исследуемых животных. Это может быть связано с различными уровнями активности ферментов метаболизирующих химических веществ, отсутствием влияния половых гормонов или с изменением чувствительности нервной системы.

Животные перед исследованием не должны использоваться для других экспериментов, а также подвергаться воздействию любых фармакологических препаратов. Число используемых животных должно быть достаточным для статистического анализа и зависит от метода расчета $ЛД_{50}$. Обычно для каждой дозы используется группа 8–10 животных.

Масса выбранных животных должна соответствовать массе половозрелых животных, для мышей – 18–20 г, а для крыс – 180–240 г. Более высокая, в сравнении с нормой, масса тела, как правило, является следствием избыточного накопления жировой ткани. Вещества, накапливающиеся в жире, в этом случае действуют слабее. Ожирение нередко сопровождается нарушением функций печени, поэтому, например, у тучных людей характер токсического действия некоторых ксенобиотиков может существенно изменяться.

Исходный период постановки токсикологического эксперимента можно условно разделить на следующие 6 этапов:

1) подбор требующихся по условиям опыта животных;
2) наблюдение, карантин и выбраковка больных животных;
3) определение исходных величин исследуемых показателей – «фон»;
4) выбраковка животных с резко выделяющимися величинами показателей;
5) распределение по группам;
6) статистическая проверка отсутствия межгрупповых различий.

Немаловажное значение для токсикологического эксперимента имеют условия содержания подопытных животных.

Таблица 6.2

Токсичность некоторых веществ (мг/кг; через рот) для мышей при изолированном и групповом содержании

Вещества	**Групповое содержание**	**Изолированное содержание**	**$ЛД_{50}$ изол. / $ЛД_{50}$ груп.**
Фенамин	34	232	6,8
Кофеин	620	1200	1,9
Пикротоксин	19	30	1,6
Мескалин	880	1180	1,3
Пентилентетразол	265	290	1,1
Бемегрид	120	120	1

Содержание животных в условиях, вызывающих у них стресс (изолированное содержание в пенале, грубая фиксация в нефизиологическом положении), приводит к увеличению токсичности (табл. 6.2). Изменение в питании также сказывается на показателях токсичности.

Наконец, следует отметить периодические изменения в чувствительности к токсикантам. Многие биологические процессы, такие как синтез ДНК, РНК, белков, нейромедиаторов, активность энзимов, параметры гемодинамики, pH мочи, количество электролитов в моче, температура тела, количество форменных элементов в крови, гормональная активность, интенсивность обмена веществ и т.д. – постоянно, достаточно ритмично изменяются во времени. У

человека и животных выявлено более 100 ритмических (суточных, годичных) изменений различных характеристик и функций организма.

6.2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ТОКСИКОМЕТРИИ

6.2.1. КРИТЕРИИ ТОКСИКОМЕТРИИ

Токсикометрия – это преимущественно экспериментальный раздел токсикологии. Поэтому получение количественных оценок действия ксенобиотиков требует реализации трех исследовательских этапов: планирования эксперимента, его проведения и получения количественных оценок и интерпретации результатов.

Первый вопрос, встающий перед токсикологом при изучении любого яда, независимо от цели предпринимаемого исследования – это вопрос о показателях (параметрах, критериях) токсичности данного вещества, о его потенциальной опасности. Иначе говоря, вопрос о том, какие концентрации яда в окружающей среде или какие дозы (при попадании вещества в организм, например, через рот) могут вызвать отравление.

Чаще всего термин «доза» служит для обозначения количества введенного в организм химического вещества, выражаемого обычно на единицу массы тела. Если доза введена в желудок, через кожу или респираторный тракт, то проникновение через мембраны может быть неполным и абсорбированная доза не соответствует введенной. При воздействии на организм факторов окружающей среды оценка дозы может опираться на изменение концентраций в окружающей среде и пищевых продуктах как функция времени; эта оценка дозы включает оценку поступления вещества с пищей, ингаляционного поступления и соответствующих факторов накопления и выведения.

Дозы в исследуемых органах и тканях могут оцениваться на основе:

а) введенной или поглощенной дозы;

б) изменения концентраций веществ в препаратах тканей и органов;

в) изменения концентраций в выделениях и выдыхаемом воздухе.

Использование указанных трех видов данных с целью оценки дозы в тканях и органах требует разработки моделей, характеризующих абсорбцию, распределение, задержку, биотрансформацию и выведение исходного вещества или его метаболитов как функцию времени.

Если место токсического действия совпадает с местом введения вещества или локализовано вблизи него (например, кожа), то определение тканевой дозы может быть достаточно надежным. Однако если место токсического действия удалено от места введения, как, например, печеночная клетка, то определение токсикологически значимой дозы значительно менее надежно.

Наличие вещества в крови свидетельствует о его абсорбции, однако концентрация вещества в крови находится в динамическом состоянии, достигая более высоких уровней при нарастающей абсорбции и падая при распределении и накоплении в тканях, метаболических превращениях и более интенсивном выведении. Концентрация химического вещества в крови может служить

полезным индикатором только в том случае, если она связана определенным образом с концентрацией в месте или местах действия (органах и тканях).

Все дозы и концентрации химических веществ, вызывающие тот или иной эффект при воздействии на различные биологические объекты, условно делятся на 2 зоны: зону смертельных (летальных) доз или концентраций (ЛД, ЛК) и зону величин несмертельных (эффективных[8], действующих – ЭД, ЭК). Характеризуя токсичность химических веществ в зоне действующих доз, широко пользуются такими критериями, как доза максимально переносимая ($ЛД_0$) и доза абсолютно смертельная ($ЛД_{100}$), хотя хорошо известно, что эти критерии, с точки зрения статистики, не являются ни состоятельными, ни достаточными. Значительно более определенную в количественном отношении характеристику токсичности ксенобиотиков в зоне смертельных доз дает величина $ЛД_{50}$, т.е. доза вещества, вызывающая гибель 50% животных, взятых в опыт.

Установление смертельных эффектов позволяет получить необходимую информацию для решения ряда задач:

– определение параметров токсичности и опасности вещества при однократном (кратковременном) воздействии, а также получение первичной информации о характере и направленности его действия;

– сравнительная оценка токсичности нескольких веществ, близких по физико-химическим свойствам или по условиям применения;

– установление видовой, половой и возрастной чувствительности лабораторных животных к действию вредного вещества;

– получение предварительной информации о способности вещества к материальной и/или функциональной кумуляции;

– сравнительная оценка токсичности исходного вещества и продуктов его трансформации в водной среде;

– получение информации, необходимой для выбора доз, исследуемых в подостром и хроническом экспериментах;

– определение правомерности применения корреляционных уравнений количественной зависимости «структура – активность» для прогноза параметров токсикометрии изучаемого вещества;

– установление зависимости «доза – эффект» и расчет средней смертельной дозы $ЛД_{50}$.

Величина $ЛД_{50}$ имеет вероятностный характер. Некоторые способы определения (например, пробит-анализ) основаны на предположении о «нормальности» кривой «доза – эффект». Из этого предположения, в большинстве случаев подтверждаемого на практике, следует, что, кроме характеристики положения $ЛД_{50}$ статистическая совокупность экспериментальных данных по определению смертельной дозы того или иного вещества должна еще иметь характеристику рассеяния. Такой характеристикой является величина среднеквадратического отклонения (ошибки) – $\sigma_{ЛД50}$. Следовательно, наиболее определенной, а может быть, и наилучшей количественной характеристикой токсичности яда в зоне смертельных доз, будет величина $ЛД_{50}$ и ее среднеквадратическая (стандартная) ошибка – $\sigma_{ЛД50}$.

---

[8] В общем виде летальную дозу можно рассматривать как частный случай эффективной.

Если величину $ЛД_{50}$ определяют почти всегда, то ее стандартную ошибку – ($\sigma_{ЛД50}$) значительно реже. Это приводит к тому, что существенная часть экспериментально собранной информации о токсичности того или иного яда, во-первых, не используется самими авторами, а во-вторых, не может быть использована другими исследователями.

Таким образом, среднесмертельная доза изучаемого вещества должна представляться в виде величины

$$ЛД_{50} \pm \sigma_{ЛД50}. \qquad (6.1)$$

Однако токсический эффект, если рассматривать его в самом общем виде, определяется (при прочих равных условиях, разумеется) не только количеством яда, но также и временем его воздействия. Кроме того, действие ядов, в зависимости от дозы или концентрации, по-разному развивается во времени. Следовательно, токсический эффект всегда есть результат взаимодействия трех факторов: организма, количества вещества и времени.

Связь между дозой вещества, временем и эффектом может быть представлена в виде поверхности в трехмерном пространстве. При сечении этой поверхности плоскостями, параллельными координатным плоскостям, получаются три семейства кривых, попарно связывающих дозу яда, время и эффект. Эти попарные зависимости между двумя величинами, при постоянном значении третьей, чаще временной величины, и являются предметом исследования токсикологов. В соответствии с числом пар, которые могут быть составлены из трех рассматриваемых величин, принципиально возможны три типа токсикологических экспериментов.

Во-первых, эксперименты по установлению связи между дозой или концентрацией яда и токсическим эффектом. Такие эксперименты осуществляются наиболее часто. К ним относятся, например, опыты по определению среднесмертельных доз и концентраций.

Во-вторых, эксперименты по установлению зависимостей между временем воздействия яда и эффектом. В ряде случаев зависимости «время – эффект» имеют большое значение, например, установление предельно допустимых концентраций вредных веществ для атмосферного воздуха.

В-третьих, эксперименты по установлению связей между дозой или концентрацией яда и временем наступления фиксированного токсического эффекта. Примером экспериментов, относящихся к этому типу, являются, хотя и с некоторой оговоркой, опыты по изучению кумулятивных свойств ядов. Оговорка состоит в том, что фактор времени в данном случае является прерывистым и, кроме того, фиксированный эффект (например, $ЛД_{50}$) при некоторой дробности дозы (например, при 0,01 $ЛД_{50}$) может вообще не наступить.

Количество яда и величина эффекта, связь которых изучается в опытах трех перечисленных типов, выражаются в соответствующих единицах. Концентрации воздействующего вещества можно выразить в единицах массы на единицу объема (мг/м^3, мг/л), в процентах, в частях на миллион (ppm, part pro million). Дозы выражаются в единицах массы или объема яда, как правило, на единицу массы животных (мг/кг, мл/кг). И концентрацию, и дозу вещества можно выразить в долях от дозы или концентрации, вызывающей определенный эффект, например, от дозы, вызывающей 50%-ную гибель животных (0,5 $ЛД_{50}$, 0,1 $ЛД_{50}$ и т. д.).

Объем эффекта выражают либо количеством животных, на которых достигнут определенный результат в течение определенного срока наблюдения за ними (например, процент гибели животных в течение первых суток после введения яда), либо по среднему результату (например, времени гибели половины подопытных животных). Между двумя названными способами выражения объема эффекта имеется существенная разница. В первом случае говорят об альтернативном эффекте. Каждое животное при таком способе учета результата дает один из двух возможных ответов: положительный, если изучаемый эффект был достигнут, и отрицательный, если он не достигнут. Такие эффекты часто называют «квантальными». Иначе говоря, учет реакции измеряется в двоичной системе (да, нет; +, –; 1, 0). Учет эффекта в альтернативной форме позволяет сопоставлять в количественном выражении токсичность различных веществ, оказывающих качественно одинаковое действие.

Во втором случае говорят о градированной (градационной) зависимости эффекта от взаимодействующего агента. Учет реакции при этом осуществляется не в частотах, всегда являющихся целыми числами, а в каких-то единицах эффекта, учитывающих объем или величину реакции каждого отдельного животного (в миллилитрах, минутах, граммах, градусах и т. п.). В этом случае результат каждого единичного измерения степени выраженности эффекта может быть и целым, и дробным, и положительным, и отрицательным. При учете токсического эффекта в градированной форме исследователь сталкивается с непрерывной изменчивостью в отличие от прерывистой изменчивости, которая имеет место при альтернативной форме учета реакции.

Если способ выражения количества яда – или в абсолютных единицах, или в долях от определенной дозы (концентрации) – не имеет существенного значения, то измерение объема токсического эффекта носит принципиальный характер. При учете реакции в альтернативной форме для каждого животного достаточно определить наступление или отсутствие эффекта. При учете же результата в градированной форме для каждого животного необходимо установить степень достигнутого эффекта. Понятно, что для учета реакции в градированной форме необходима более тонкая методика и индивидуальный подход к каждому животному. Таким образом, рассматривая вопрос об изучении зависимостей между дозой яда, временем и эффектом, следует иметь в виду возможность проведения шести видов токсикологических экспериментов: три типа по два варианта в каждом – в зависимости от формы учета эффекта (альтернативной или градированной).

В соответствии с установившейся в токсикологии практикой, зависимости между количеством яда и эффектом исследуются в острых, подострых и хронических экспериментах. Основными критериями токсического эффекта при этом являются: смерть животного, изменения показателей различных функций, пороговые эффекты и отсутствие каких–либо изменений в состоянии подопытных животных.

6.2.2. ПЛАНИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТА

Токсический эффект – результат взаимодействия организма и токсиканта. Это значит, что при изучении токсичности веществ, т.е. при планировании, необходим всесторонний учет не только особенностей организма, но и исследуемого токсического агента. На этой стадии проводится анализ литературных данных о характере биологического действия, токсичности и опасности известных аналогов изучаемого вещества.

Природа или характер токсического действия, присущего данному химическому веществу, зависит в значительной степени от функциональной группы или групп, входящих в молекулу вещества. Знание реакций, в которые могут вступать эти функциональные группы с реакционноспособными группами критических эндогенных биохимических компонентов, дает возможность прогнозировать характер ожидаемого токсического действия.

По таким физико-химическим константам, как молекулярная масса (*Mr*), температура кипения ($t°$ кип.), плотность (d) и некоторым другим, можно установить степень корреляции с параметрами токсикометрии. Опираясь на установленные связи между структурой, физико-химическими свойствами и действием изучаемых веществ, можно, в известной степени, синтезировать близкие по строению и составу вещества.

Оценка токсичности на основании аналогии с химически родственными веществами в значительной мере чревата ошибками и требует большого объема токсикологической информации, характеризующей очень близкие по химическому строению вещества. Даже незначительные различия в химической структуре могут сопровождаться значительными изменениями в токсичности.

Предварительная оценка степени токсичности вещества может быть произведена при однократном введении путем установления верхней и нижней границ диапазона его токсического действия, т. е. смертельной и пороговой доз. Верхний и нижний параметры токсичности определяют зону острого токсического действия. Опасность острого отравления устанавливается шириной этой зоны. Чем она уже, тем более возможно острое отравление.

Верхние параметры токсичности представляют собой смертельные дозы, т.е. такие количества вещества, которые при введении в организм вызывают гибель определенного количества животных в опытной группе.

Практически определение верхнего параметра токсичности производится на основании анализов результатов испытания ряда последовательно возрастающих доз вещества с использованием для каждой дозы определенной группы животных одного вида: от дозы, не вызывающей ни одного случая смерти, до дозы, приводящей к гибели всех животных в группе. Учитывается зависимость между величиной дозы вещества и частотой наступления летального исхода.

В начале острого опыта в первую очередь надо установить, в каких цифровых порядках находятся параметры токсичности. Целесообразно в целях выявления доз, лежащих в зоне летального действия, использовать в начале для каждой дозы не более 1–2 животных. Опыты с необходимым для статистики количеством животных начинают от той дозы, при введении которой в ориентировочном опыте животное осталось живо, в то время как от всех более высоких доз животные погибали.

Некоторые авторы рекомендуют в предварительных опытах определять порядок смертельных доз, испытывая дозы, кратные 10 (например: 5, 50, 500, 5000 мг/кг).

Так как для проведения полного опыта по установлению параметров токсичности требуется в общей сложности довольно большое количество животных, то чаще для этой цели используют мышей. При установлении смертельных параметров для животных других видов можно использовать меньшее количество особей, применив, например, метод Ван дер Вердена.

Испытуемые дозы должны находиться на равных численных значениях. При выборе доз обычно прибегают к арифметической прогрессии (например, 1, 2, 3, 4, 5 и т. д. или 5, 10, 15, 20 и т. д.). Но дозы, взятые в арифметической прогрессии, разнятся между собой некратно. Так, дозы 5 и 10 разнятся в 2 раза, а дозы того же ряда 50 и 55 лишь на 10%. Это заставило некоторых авторов предложить пользоваться при выборе доз геометрической прогрессией (например, 1, 2, 4, 8, 16, 32 и т. д. или 0,1, 0,01, 0,001 и т. д.) или применять ряды Фульда. Эти ряды представляют собой геометрические прогрессии с начальным членом 10^n и знаменателем $\sqrt[m]{10}$, где n – любое целое положительное или отрицательное число, а m – любое положительное целое число, отличное от нуля. Удобство этих рядов заключается в том, что они содержат одни и те же соотношения во всех разрядах единиц. Конкретный ряд рекомендуется выбирать в зависимости от количества используемых для опыта животных. Например, для опытов, где каждую дозу испытывают на 5–6 животных, подходят следующие ряды:

1,0; 1,5; 2,1; 3,2; 4,6; 8,8; 10,0; 15,0 и

1,0; 1,4; 1,9; 2,7; 3,7; 5,2; 7,2; 10,0; 14,0.

Для опытов, в которых дозу испытывают на 10 животных, можно применить ряды:

1,0; 1,3; 1,8; 2,4; 3,2; 4,2; 5,6; 7,5; 10,0; 13,0

1,0; 1,3; 1,7; 2,1; 2,8; 3,6; 4,6; 6,0; 7,7; 10,0; 13,0

1,0; 1,3; 1,6; 2,0; 3,2; 4,0; 5,0; 6,3; 8,0; 10,0.

После того как приблизительное значение эффективных доз найдено, приступают к основному эксперименту. Подопытные животные разделяются на равные по численности группы – по 6–10 животных в каждой группе. На каждой группе испытывают одну дозу. Всего испытывают 5–8 доз, доходя, с одной стороны, до дозы, не вызывающей учитываемой реакции ни у одного из животных в группе, и, с другой стороны, до дозы, вызывающей эту реакцию у всей группы животных. Во всех случаях желательно, а для некоторых методов необходимо, чтобы интервал между испытываемыми дозами был постоянным.

Следует стремиться к тому, чтобы весь опыт был проведен в течение одного дня. Если это невозможно, то рекомендуют ежедневно испытывать весь ряд доз на меньшем количестве животных.

При изучении токсичности следует считать обязательным правилом вскрытие каждого погибшего животного, с тем чтобы исключить из эксперимента животных, смерть которых могла наступить не из-за действия токсического агента. Так, например, при внутрибрюшинном введении вещества возможно повреждение кровеносных сосудов, о чем будет свидетельствовать значительное количество крови в брюшной полости. В случае введения токсиканта внутрижелудочно, возможно повреждение пищевода, или ошибочное введение вещества в трахею.

В результате эксперимента исследователь получает данные о количестве животных, у которых под влиянием испытанных доз вещества наблюдалась или не наблюдалась учитываемая реакция. Эти данные заносятся в таблицу, в которой результат эксперимента обычно записывают в виде дроби: в числителе указывают число животных, у которых наблюдалась учитываемая реакция, в знаменателе – число животных, у которых эта реакция не наблюдалась, либо общее число животных в группе.

6.2.3. МЕТОДЫ РАСЧЕТА СРЕДНЕЭФФЕКТИВНОЙ ДОЗЫ ТОКСИКАНТОВ

Среднесмертельная доза вычисляется статистическими методами. Наиболее известны методы Беренса, Кёрбера, Першина, Беренса и Шлоссера, метод наименьших квадратов, методы пробит-анализа Миллера и Тейтнера, Литчфилда и Уилкоксона, метод Штабского и некоторые другие.

При определении эффективной дозы какого-либо вещества, вызывающего определенный эффект, находят не одну определенную величину, а ряд величин, которые образуют вариационный ряд, отражающий колебания индивидуальной чувствительности животных к воздействию данного вещества. Следовательно, задача количественной характеристики активности изучаемого вещества может быть решена только путем количественной характеристики вариационного ряда его индивидуальных эффективных доз. Многочисленные исследования показали, что распределение частот индивидуальных эффективных доз в этом вариационном ряду приближается к нормальному распределению.

В условиях нормального распределения вариационный ряд может быть полностью определен средней арифметической варьирующего признака (в данном случае – доза) и величиной стандартного отклонения (σ). Так как при количественной оценке фармакологической активности нас интересует не выборочная средняя, а ее истинное значение, то представляется необходимым найти величину стандартной ошибки средней арифметической (σ) из индивидуальных минимальных эффективных доз. Найти ее можно, используя известную формулу:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma(x-\bar{x})^2}{n-1}}, \qquad (6.2)$$

где $\bar{x}$ – средняя арифметическая вариационного ряда, x – значение отдельного наблюдения, n – число наблюдений.

Другой путь определения средней эффективной дозы вытекает из особенностей кривой нормального распределения. Площадь над осью абсцисс, ограниченная этой кривой, выражает общее количество животных, у которых наблюдалась изучаемая реакция (рис. 6.1, А).

Рис. 6.1. Соотношение между кривой нормального распределения (А) и соответствующей ей кумулятой (Б)

Так как кривая нормального распределения симметрична, то перпендикуляр, восстановленный из точки $\bar{x}$, соответствующей средней эффективной дозе, разделит всю площадь, ограниченную кривой, на две равные части. Следовательно, средняя эффективная доза является вместе с тем той дозой, которая вызывает изучаемый эффект у 50% подопытных животных. Итак, вместо того чтобы на очень большом количестве животных определять эффективные дозы и из них вычислять среднюю арифметическую, можно избрать более простой путь, искать ту дозу, которая вызывает изучаемый эффект у 50% подопытных животных.

Наиболее распространенный способ определения зависимости «доза – эффект» состоит в формировании в группе экспериментальных животных нескольких подгрупп. Животным, входящим в данную подгруппу, исследуемое вещество вводят в одинаковой дозе, а в каждой последующей подгруппе доза увеличивается. Как правило, учитываемая реакция проявляется, лишь начиная с какой–то определенной дозы; с ее увеличением частота возникновения этой реакции будет нарастать, и наконец при какой-то величине дозы эта реакция наступит у всех животных данной подгруппы. Зависимость между величиной дозы и частотой возникновения реакции можно изобразить графически. Для этого по оси абсцисс следует отложить дозы, а по оси ординат – частоту воз-

никновения учитываемого эффекта к числу животных, на которых данную дозу испытали (рис. 6.1, Б; 6.2). При этом зависимость между дозой и частотой наступления реакции будет представлена симметричной S-образной кривой, которую обычно называют кумулятивной (кумулятой), или характеристической кривой частот распределения, где количество животных с положительной реакцией на токсический агент, является функцией дозы. На этой кривой средняя эффективная доза ($ЕД_{50}$) соответствует величине абсциссы для той части кривой, ордината которой равна 50% (рис. 6.2).

Рис. 6.2. Типичная кривая «доза – эффект» для группы животных, симметричная относительно средней точки (50% ответ). Основные значения ответа группы на токсикант сосредоточены вокруг среднего значения (Куценко и др., 2003)

Для стандартизированной кривой нормального распределения, т. е. при стандартном отклонении теоретического распределения $\sigma = 1$, следует отметить, что при $\sigma = -1$ площадь, отсекаемая перпендикуляром, восстановленным из этой точки, составляет 16% (точнее, 15,87%) общей площади, ограниченной кривой распределения; при $\sigma = +1$отсекаемая площадь составляет 84% (точнее, 84,13%) общей площади, ограниченной кривой распределения. Следовательно, доза вещества, которая меньше чем $ЛД_{50}$ на величину стандарта, должна вызывать реакцию у 16% животных; доза, превышающая $ЛД_{50}$ на величину стандарта, должна вызывать реакцию у 84% животных. Эти дозы соответственно обозначают $ЛД_{16}$ и $ЛД_{84}$.

Итак,

$$ЛД_{16} = ЛД_{50} - \sigma, \quad (6.3)$$

$$ЛД_{84} = ЛД_{50} + \sigma. \quad (6.4)$$

Отсюда

$$ЛД_{84} - ЛД_{16} = ЛД_{50} + \sigma - ЛД_{50} + \sigma = 2\sigma, \quad (6.5)$$

Следовательно,

$$\sigma = \left(ЛД_{84} - ЛД_{16}\right) / 2. \qquad (6.6)$$

Это соотношение часто используется для нахождения стандартного отклонения и стандартной ошибки $ЛД_{50}$.

Характеристическая кривая имеет важное значение для количественной оценки фармакологической активности. По существу, все методы количественного определения активности сводятся к построению характеристической кривой, или эквивалентной ей прямой, на основании данных, полученных в результате эксперимента и к последующему их анализу[9].

6.2.3.1. Метод Беренса. Метод вычисления $ЛД_{50}$ по Беренсу основывается на том положении, что общее количество животных, погибших от доз, меньше $ЛД_{50}$ равно общему количеству животных, выживших от доз, больших $ЛД_{50}$. Для того чтобы экспериментальный материал мог быть обработан по методу Беренса, необходимо, чтобы интервал между испытываемыми дозами был одинаков и чтобы для испытания каждой из доз было использовано одинаковое количество животных. В целях выравнивания экспериментальной характеристической кривой Беренс предложил прием так называемого «накопления частот». Этот прием заключается в том, что к числу животных, погибших от каждой их испытанных доз, прибавляется количество животных, погибших от всех меньших испытанных доз, а к числу животных, выживших от каждой из испытанных доз, прибавляют количество животных, выживших от всех более высоких испытанных доз.

Логически этот прием вполне оправдан. Так, если данное животное погибло под влиянием какой-то дозы изучаемого вещества, то оно, несомненно погибло бы, если бы это вещество было введено в более высокой дозе; наоборот, если данное животное осталось в живых после введения ему определенной дозы изучаемого вещества, то оно, бесспорно, выжило бы, если бы это вещество было ему введено в меньшей дозе.

На основании вычисленных «накопленных частот» подсчитывают смертность в процентах от каждой из испытанных доз и строят характеристическую кривую, откладывая по оси абсцисс испытанные дозы, а по оси ординат – проценты смертельных исходов. Величина $ЛД_{50}$ может быть найдена непосредственно из графика. Для этого из той точки характеристической кривой, которой соответствует 50% смертельных исходов, опускают перпендикуляр на ось абсцисс; величине $ЛД_{50}$ соответствует точка пересечения этого перпендикуляра с осью абсцисс.

Близкую по значению величину $ЛД_{50}$ можно получить и без построения графика. Так как в средней части характеристической кривой небольшой ее отрезок мало отличается от прямой линии, то величину $ЛД_{50}$ можно вычислить путем прямолинейного интерполирования между ближайшими к $ЛД_{50}$ меньшей и большей дозами.

---

[9] Изложенные здесь методы во многом имеют историческую ценность, поскольку широкое применение вычислительной техники и соотвествующих программных продуктов (например, статистической среды R) фактически автоматизировало расчеты $ЛД_{50}$, однако в процессе обучения полезно познакомиться и с «ручными» методами.

Если интервал между испытанными дозами равен *d,* а величина $ЛД_{50}$ находится между А и В, из которых доза А вызвала *a*% смертельных исходов ($a < 50$) и доза В вызвала *b*% смертельных исходов ($b > 50$), то

$$ЛД_{50} = А + \frac{(50 - a)d}{b - a}. \qquad (6.7)$$

Следует отметить, что при «накоплении частот» происходит незначительное искажение формы характеристической кривой, причем средний участок кривой не страдает. В связи с этим, при обсчете экспериментальных данных этим методом невозможно установить доверительные границы.

Практическое использование метода Беренса можно проиллюстрировать на примере обработки экспериментального материала по изучению токсичности тубазида, подробно описанного М.Л. Беленьким (1963).

Процесс обработки представлен в табл. 6.3.

Таблица 6.3

Обработка материалов по установлению токсичности тубазида по методу Беренса

Доза, мг/кг	Фактический результат	«Накопленные частоты»	% смертности
150	0/8	0/22	0
160	1/7	1/14	6,7
170	4/4	5/7	41,6
180	6/2	11/3	78,6
190	7/1	18/1	94,7
200	8/0	26/0	100,0

В первой колонке таблицы указаны испытанные дозы изучаемого вещества, во второй – фактический результат (в числителе – погибшие животные, в знаменателе – выжившие), в третьей – результат «накопления частот» и в четвертой колонке – процент смертельных исходов, рассчитанный на основании данных третьей колонки. «Накопление частот» происходит следующим образом. Для дозы 150 мг/кг, от которой фактически выжило 8 животных, записываем результат: погибло 0 животных, выжило 8 + 7 + 4 + 2 + 1 = 22 животных, т. е. прибавляем к числу фактически выживших животных число животных, которые выжили от более высоких доз. Для дозы 160 мг/кг, от которой в эксперименте 1 животное погибло и выжило 7: погибло 1 животное, выжило 7 + 4 + 2 + 1 = 14 животных. Для дозы 170 мг/кг, от которой погибло в эксперименте 4 животных: погибло 4 + 1 = 5 животных, т. е. прибавляем одно животное, погибшее от меньшей дозы, выжило 4 + 2 + 1= 7 животных и т. д. На основании вычисленных по «накопленным частотам» процентов смертельных исходов строим характеристическую кривую. Из этой кривой находим, что интересующая нас величина $ЛД_{50}$ = 172,3 мг/кг.

Как уже указывалось выше, величину $ЛД_{50}$ можно определить, не прибегая к построению графика, непосредственно из данных, находящихся в 1 и 4 колонках расчетной табл. 6.3 по формуле (6.7). В нашем случае:

$d = 10$	А = 170 мг/кг	В = 180 мг/кг
	$a = 41{,}6\%$	$b = 78{,}6\%$

Следовательно,

$$ЛД_{50} = А + \frac{(50-a)d}{b-a} = 170 + \frac{(50-41{,}6)\cdot 10}{78{,}6-41{,}6} = 172{,}3 \text{ мг/кг.}$$

6.2.3.2. Метод Кёрбера. Этот метод вычисления $ЛД_{50}$ не требует графического изображения кривой. Для вычисления $ЛД_{50}$ используются непосредственные результаты эксперимента. В каждой группе, так же как и при использовании метода Беренса, должно быть одинаковое число животных. Кёрбер считает достаточным, чтобы каждая группа животных состояла из 6 животных. Интервал между дозами при пользовании этим методом не обязательно должен быть одинаковым. Достаточно, чтобы было испытано всего 4–5 доз, включая, с одной стороны, дозу, не вызывающую эффекта ни у одного животного в группе, и, с другой стороны, дозу, вызывающую эффект у всех животных группы. Определение $ЛД_{50}$ производится по формуле:

$$ЛД_{50} = ЛД_{100} - \frac{\sum(zd)}{m}, \qquad (6.8)$$

где $ЛД_{50}$ –доза изучаемого вещества, которая вызвала учитываемый эффект у всей группы животных; d – интервал между двумя смежными дозами, z – среднее арифметическое из числа животных, у которых наблюдалась учитываемая реакция под влиянием каждых двух смежных доз, m – число животных в каждой группе.

Ход обработки данным методом проиллюстрирован на том же материале в табл. 6.4, заимствованной из работы М.Л. Беленького (1963).

Таблица 6.4

Обработка материала по изучению токсичности тубазида с помощью метода Кёрбера

Доза, мг/кг	**150**	**160**	**170**	**180**	**190**	**200**
Выжило	8	7	4	2	1	0
Погибло	0	1	4	6	7	8
z		0,5	2,5	5,0	6,5	7,5
d		10	10	10	10	10
zd		5,0	2,5	50,0	65,0	75,0

$$m = 8,$$

$$\sum(zd) = 5,0 + 25,0 + 50,0 + 65,0 + 75,0 = 220,$$

$$ЛД_{100} = 200 \text{ мг/кг},$$

$$ЛД_{50} = ЛД_{100} - \frac{\sum(zd)}{m} = 200 - \frac{220}{8} = 200 - 27,5 = 172,5 \text{ мг/кг}.$$

Для ориентировочной оценки величины стандартной ошибки $ЛД_{50}$ ($\sigma_{ЛД50}$) при применении методов Беренса и Кёрбера можно воспользоваться формулой Гэддама:

$$\sigma_{ЛД50} = \sqrt{k\sigma d / n}, \qquad (6.9)$$

где σ – стандартное отклонение, d – интервал между испытанными дозами, n – число животных в каждой группе, k – постоянный множитель, который при пользовании методом Беренса равен 0,66, а при пользовании методом Кёрбера – 0,564. Для определения σ из графика находим $ЛД_{16}$ и $ЛД_{84}$. Стандартное отклонение равно половине разности между этими величинами:

$$\sigma = \left(ЛД_{84} - ЛД_{16}\right)/2. \qquad (6.10)$$

Численное значение $\sigma_{ЛД50}$ – для приведенных примеров предлагаем найти читателю самостоятельно после установления графическим путем соответствующих значений $ЛД_{50}$ и $ЛД_{16}$. Окончательный результат определения $ЛД_{50}$ для тубазида:

метод Беренса $ЛД_{50}$ = 172,3±2,8 мг/кг

метод Кёрбера $ЛД_{50}$ = 172,5±3,3 мг/кг

Рассмотренные методы не дают возможности количественно оценить относительную токсичность (активность) сравниваемых соединений, т. е. сделать заключение, во сколько раз одно соединение токсичнее (активнее) другого.

Для решения этого вопроса, а также вычисления доверительных интервалов разработаны различные варианты так называемого пробит-анализа.

6.2.3.3. Методы пробит-анализа. Другие методы вычисления относительной активности изучаемых соединений, а также вычисление доверительных границ активности базируются на методе пробит-анализа. Суть этого метода заключается в преобразовании характеристической кривой в прямую. На теоретической кривой нормального распределения минимальных эффектив-

ных доз, равно как и на теоретической характеристической кривой, величина любой дозы представлена как алгебраическая сумма средней эффективной и определенной дозы, выраженной в единицах стандартного отклонения:

$$x = \text{ЛД}_{50} + n\sigma, \qquad (6.11)$$

где x – любая доза, σ – стандартное отклонение, n – нормальный эквивалент отклонения.

Любой величине n соответствует совершенно определенная частота учитываемости эффекта, которую можно выразить в процентах. Так, при $n = 0$, $x = \text{ЛД}_{50}$, т.е. частота учитываемого эффекта составляет 50%. При анализе характеристической кривой (рис. 6.1, Б) указывалось, что при $n = -1$ частота учитываемого эффекта равна 16%, а при $n = +1$ она составляет 84%. Таким образом, величине n всегда эквивалентен совершенно определенный процент учитываемой реакции, что и дало основание назвать эту величину нормальным эквивалентным отклонением. Величину n можно выразить следующим образом:

$$n = \frac{x - \text{ЛД}_{50}}{\sigma}. \qquad (6.12)$$

Полученное уравнение является уравнением первой степени, и в графической форме зависимость между дозами и соответствующими нормальными эквивалентными отклонениями должна представлять собой прямую линию.

Пробит-анализ – это количественный анализ экспериментальных данных, основанный на изучении зависимости между логарифмами испытанных в эксперименте доз и пробитами, соответствующими наблюдавшимся эффектам. Пробит – это вероятностная единица (probability unit), связанная определенным соотношением с нормальным эквивалентным отношением, которое соответствует определенной частоте учитываемого эффекта, регистрируемого в процентах. Введен пробит в связи с тем, что дозам, меньшим ЛД_{50}, соответствуют отрицательные значения нормальных эквивалентных отклонений. Для того чтобы исключить необходимость оперирования с отрицательными величинами, было предложено вместо нормального эквивалентного отношения пользоваться величиной «пробит» – Y,

$$Y = n + 5. \qquad (6.13)$$

Величина пробита Y может принять отрицательное значение, если $n < -5$. Такому значению нормального эквивалентного отклонения соответствует частота эффекта, меньшая 0,0001%, которая не встречается в исследовательской практике. Легко запомнить, что для каждого $n = 0$, пробит, т. е. $Y = 5$. Следовательно, для ЛД_{84} $n = +1$, следовательно, пробит, $Y = 6$ и, в свою очередь, для ЛД_{16}, $n = -1$, $Y = 4$. Для преобразования наблюдаемого эффекта, выраженного в процентах, в пробиты составлена специальная таблица (табл. 6.5).

***6.2.3.4. Метод Миллера и Тейнтера*[10].** Метод пробит-анализа Миллера и Тейнтера позволяет определить величину $ЛД_{50}$ и ее стандартную ошибку, сведя к минимуму вычислительные операции. Преимуществом этого метода является отсутствие зависимости от количества используемых животных, и при этом не обязательно также сохранение постоянного интервала между испытанными дозами.

Процесс обработки экспериментального материала по Миллеру и Тейнтеру складывается из следующих этапов.

1 этап.

На листе миллиметровой бумаги достаточного размера (не менее 20×28 см) строится прямоугольная система координат. По оси ординат откладывают шкалу пробитов в масштабе 0,2 пробита в 1 см. Длина оси ординат должна быть достаточной, чтобы на ней уместились значения пробитов от 2,4 (у начала координат) до 7,40, т. е. она должна иметь длину не менее 25 см. Для нанесения на ось абсцисс значений испытанных доз в логарифмической шкале используют нижнюю шкалу выдвижной части счетной логарифмической линейки. Совмещают с началом координат начало шкалы и переносят с нее на ось абсцисс деления, соответствующие всем испытанным дозам. Для всех испытанных доз, кроме дозы, которая не вызвала учитываемого эффекта ни у одного животного в группе (0% эффекта), и дозы, вызвавшей эффект у всей группы животных (100% эффекта), отмечают на графике точки, соответствующие наблюдавшемуся в эксперименте пробиту (табл. 6.5).

Так как 0 и 100%-ные эффекты теоретически существовать не могут, предложено высчитывать «исправленный» процент эффекта. Для дозы, не вызвавшей реакции ни у одного из животных в группе, его принимают равным $\frac{0{,}25 \cdot 100}{N}\%$, а для дозы, вызвавшей реакцию у всей группы животных,

$$\frac{(N - 0{,}25) \cdot 100}{N}\%,$$

где N – количество животных в данной группе. Найденные таким образом «исправленные» проценты эффекта также наносят на график, соответственно дозам, для которых эффект, фактически наблюдавшийся в эксперименте, составлял 0 и 100%.

Для освобождения от необходимости рассчитывать «исправленные» проценты эффекта составлена таблица, позволяющая находить «рабочие пробиты», соответствующие «исправленным» процентам эффекта (табл. 6.6).

---

[10] Несмотря на свою «архаичность» знакомство с этим методом позволяет понять суть пробит-анализа. Читателю предлагается построить график самостоятельно.

Таблица 6.5

Выражение эффекта, наблюдавшегося в эксперименте, в пробитах (верхняя цифра) и в процентах (нижняя цифра в скобках)

Число животных в группе	Количество животных, у которых наблюдался изучаемый эффект														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
3	4,57 (33,3)	5,43 (66,6)	(100)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
4	4,33 (25)	5,00 (50)	5,67 (75)	– (100)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
5	4,16 (20)	4,75 (40)	5,25 (60)	5,84 (80)	– (100)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
6	4,03 (16,7)	4,57 (33,3)	5,00 (50)	5,43 (66,6)	8,97 (83,3)	– (100)	–	–	–	–	–	–	–	–	
7	3,93 (14,3)	4,43 (28,6)	4,82 (42,9)	5,18 (57,1)	5,57 (71,4)	6,07 (85,7)	– (100)	–	–	–	–	–	–	–	
8	3,85 (12,5)	4,33 (25)	4,68 (37,5)	5,00 (50)	5,32 (62,5)	5,67 (75)	6,15 (87,5)	– (100)	–	–	–	–	–	–	
9	3,78 (11,1)	4,23 (22,2)	4,57 (33,3)	4,86 (44,4)	5,14 (55,6)	5,43 (66,7)	5,77 (77,8)	6,22 (88,9)	– (100)	–	–	–	–	–	
10	3,72 (10)	4,16 (20)	4,48 (30)	4,75 (40)	5,00 (50)	5,25 (60)	5,52 (70)	5,84 (80)	6,28 (90)	– (100)	–	–	–	–	
11	3,67 (9,1)	4,09 (18,2)	4,40 (27,3)	4,65 (36,4)	4,89 (45,5)	5,11 (54,5)	5,35 (63,6)	5,60 (72,7)	5,91 (81,8)	6,33 (90,9)	– (100)	–	–		
12	3,61 (8,3)	4,03 (16,7)	4,33 (25)	4,57 (33,3)	4,79 (41,7)	5,00 (50)	5,21 (58,3)	5,43 (66,6)	5,67 (75)	5,97 (83,3)	6,39 (91,7)	– (100))	–	–	
13	3,57 (7,7)	3,98 (15,4)	4,26 (23,1)	4,50 (30,8)	4,71 (38,5)	4,90 (46,2)	5,10 (53,8)	5,29 (61,5)	5,50 (69,2)	5,74 (76,9)	6,02 (84,6)	6,43 (92,3)	– (100)	–	
14	3,53 (7,1)	3,93 (14,3)	4,21 (21,4)	4,43 (28,6)	4,63 (35,7)	4,82 (42,9)	5,00 (50,0)	5,18 (57,1)	5,37 (64,3)	5,57 (71,4)	5,79 (78,6)	6,07 (85,7)	6,47 (92,9)	– (100)	
15	3,50 (6,7)	3,89 (13,3)	4,16 (20)	4,38 (26,7)	4,57 (40)	4,75 (40)	4,92 (46,7)	5,08 (53,3)	5,25 (60)	5,43 (66,6)	5,62 (73,3)	5,84 (80)	6,11 (86,7)	6,50 (93,3)	– (100)

Таблица 6.6

«Рабочие пробиты» для эффектов, равных 0% или 100%
(к методу Миллера и Тейнтера)

Число животных в группе	«Рабочие пробиты» для эффектов, равных	
	0%	100%
2	3,85	6,15
3	3,62	6,38
4	3,47	6,53
5	3,36	6,64
6	3,27	6,73
7	3,20	6,80
8	3,13	6,87
9	3,09	6,91
10	3,04	6,96
11	3,00	7,00
12	2,97	7,03
13	2,93	7,07
14	2,90	7,10
15	2,87	7,13
16	2,85	7,15
17	2,82	7,18
18	2,80	7,20
19	2,78	7,22
20	2,76	7,24

II этап.

Как правило, точки, нанесенные на график на основе данных эксперимента, не лежат строго на одной прямой линии. Прямая должна быть проведена так, чтобы она по возможности лучше соответствовала этим точкам. Лучше это делать с помощью прозрачной линейки. При этом надо считаться с тем обстоятельством, что экспериментальные точки имеют тем больший «вес», чем ближе располагаются к значению 50%; точки, расположенные на уровне 16 и 84% имеют «вес», равный примерно 2/3 и т. д.

III этап.

Исходя из оптимально проведенной прямой, находим на оси абсцисс значение дозы для той точки на приведенной прямой, которой соответствует пробит 5. Эта доза и есть $ЛД_{50}$. Дозы, пробиты которых равны 4 и 6, соответствуют величинам $ЛД_{16}$ и $ЛД_{84}$.

IV этап. Вычисление стандартной ошибки $ЛД_{50}$. Как уже указывалось выше (формула 6.5), разность между $ЛД_{84}$ (пробит 6) и $ЛД_{16}$ (пробит 4) равна удвоенному стандартному отклонению.

$$ЛД_{84} – ЛД_{16} = 2\sigma.$$

Для вычисления стандартной ошибки $ЛД_{50}$ Миллер и Тейнтер предлагают использовать формулу:

$$\sigma ЛД_{50} = \frac{2\sigma}{\sqrt{N'}},$$

где N' – общее количество животных в группах, в которых наблюдается изучаемый эффект от 16 до 84% (или между пробитами 4 и 6).

В качестве примера разберем данные, приведенные у М.Л. Беленького (1963). Экспериментальные данные занесем в табл. 6.7.

Таблица 6.7

Обработка экспериментального материала по изучению токсичности соединений V-40 методом Миллере и Тейнтера

Доза, мг/кг	Наблюдавшийся эффект	% животных, у которых наблюдалась реакция	Исправленный процент эффекта («рабочий» пробит)
1	2	3	4
80	0/6	0 (–)	$\frac{0{,}25 \cdot 100}{6} = 4{,}16$ (3,27)
100	1/6	16,7 (4,03)	
120	3/6	50,0 (5,00)	
140	5/6	83,3 (8,97)	
160	6/6	100,0 (–)	$\frac{(6-0{,}25) \cdot 100}{6} = 95{,}83$ (6,73)

В первой колонке записываем испытанные дозы, во второй наблюдавшийся эффект (в числителе – число погибших животных, в знаменателе – число животных в группе). В третьей колонке – эффект, выраженный в процентах (или теоретических пробитах, взятых из табл. 6.5), в четвертой колонке – «исправленное» значение процента эффекта для доз, вызвавших 0 и 100% эффекты (или «рабочие» пробиты, взятые из табл. 6 6).

По данным, помещенным в 3 и 4-ю колонки таблицы, наносим точки в систему координат на миллиметровой бумаге. Проводим на глаз прямую линию, которая находится по возможности в лучшем соответствии с нанесенными точками.

Находим на оси абсцисс дозы, соответствующие $ЛД_{50}$, $ЛД_{16}$ и $ЛД_{84}$. Согласно графику получается $ЛД_{50}$ = 118 мг/кг, $ЛД_{16}$ = 98 мг/кг, $ЛД_{84}$ = = 144 мг/кг.

Вычисляем стандартную ошибку $ЛД_{50}$. Для этого определим значение величины N'. На проведенной прямой в пределах пробитов 3,6–6,5 находятся точки, соответствующие трем дозам: 100, 120 и 140 мг/кг. Таким образом N' = 18.

Вычисление доверительных границ $ЛД_{50}$. Определим доверительные границы, задавшись вероятностью p = 0,05 возможного выхода истинного значения $ЛД_{50}$ за пределы вычисленных границ. Доверительный интервал при использовании малой выборки находится между границами $\bar{x} - t\sigma_x$ и $\bar{x} + t\sigma_x$, где t – критерий Стьюдента, величина, зависящая от объема выборки, т.е. от количества наблюдений, из которых вычислена средняя арифметическая, и от допускаемой экспериментатором вероятности (p) выхода истинного значения средней арифметической за пределы доверительного интервала.

Величину t находим из таблицы «t-распределения», имеющейся во всех руководствах по статистическим методам анализа. Руководствуясь заданным значением p = 0,05, для числа степеней свободы $f = N - 1 = 11$. По таблице находим = 2,11. Следовательно, нижняя доверительная граница для $ЛД_{50}$ равна 118 – 7,7·2,11 = 118 – 16,2 = 101,8 мг/кг, а верхняя – 118 + 7,7·2,11 = = 134,2 мг/кг.

Итак, $ЛД_{50}$ = 118 (101,8 ÷ 134,2) мг/кг.

Более полную и объективную информацию о величине фармакологической активности изучаемых соединений дает применение метода пробит-анализа, предложенного Литчфилдом и Уилкоксоном. От ранее описанного метода он отличается тем, что благодаря применению номограмм, он освобождает исследователя от громоздкой вычислительной работы, требующей значительной затраты времени, повышает точность результатов. Подробное описание метода Литчфидда и Уилкоксона можно найти в работе М.П. Беленького (1963).

6.2.3.5. Модифицированный метод пробит-анализа. Для вычисления среднесмертельной дозы можно воспользоваться модифицированным методом пробит-анализа. Этот метод основан на расчете $ЛД_{50}$ с помощью формул и поддается компьютеризации.

Для проведения расчета вначале заполняется рабочая таблица.

Летальность и пробиты для заполнения колонок 2 и 3 берутся из табл. 6.5 и 6.6. Весовой коэффициент пробитов берется из табл. 6.9.

Таблица 6.8

Рабочая таблица

Доза, мг/кг ***X***	**Летальность**	**Пробиты** ***Y***	**Весовой коэфф.** ***B***	***XB***	X^2B	***YB***	***XYB***
1	2	3	4	5	6	7	8
1							
2							
3							
4							
5							
			ΣB	ΣXB	ΣX^2B	ΣYB	ΣXYB

Таблица 6.9

Весовой коэффициент пробитов

Пробит	**0,0**	**0,1**	**0,2**	**0,3**	**0,4**	**0,5**	**0,6**	**0,7**	**0,8**	**0,9**
3	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0	2,3	2,6	2,9	3,2
4	3,5	3,7	3,9	4,1	4,3	4,5	4,6	4,7	4,8	4,9
5	5,0	4,9	4,8	4,7	4,6	4,5	4,3	4,1	3,9	3,7
6	3,5	3,2	2,9	2,6	2,3	2,0	1,8	1,6	1,4	1,2

Следующим этапом расчета находятся расчетные величины XB, X^2B, YB, XYB для каждой дозы. Затем для каждой из величин находится сумма внутри колонки. Данные таблицы подставляются в нижеприведенные формулы:

$$ЛД_{50} = \frac{5 - A_0}{A_1}, \quad (6.14)$$

$$ЛД_{16} = \frac{4 - A_0}{A_1}, \quad (6.15)$$

$$ЛД_{84} = \frac{6 - A_0}{A_1}, \quad (6.16)$$

$$A_1 = \frac{\Sigma XYB - \frac{\Sigma XB \times \Sigma YB}{\Sigma B}}{\Sigma X^2 B - \frac{(\Sigma XB)^2}{\Sigma B}}, \quad (6.17)$$

$$m = \pm \frac{ЛД_{84} - ЛД_{16}}{\sqrt{2n}}, \quad (6.18)$$

$$A_0 = \frac{\Sigma YB - \Sigma XB \times A_1}{\Sigma B}. \quad (6.19)$$

При необходимости пересчета результата (мг/кг) на массу одной мыши (около 20 г) получаем количество мышиных единиц действия (МЕД)

$$МЕД = ЛД_{50}\left(мг/кг\right) / 50. \quad (6.20)$$

Для ранее рассмотренного примера это будет выглядеть следующим образом (табл. 6.10).

Таблица 6.10

Обработка экспериментального материала по изучению токсичности соединения V-40 модифицированным методом пробит-анализа

Доза, мг/кг *X*	**Летальность**	**Пробиты *Y***	**Весовой коэфф. *B***	***XB***	***X²B***	***YB***	***XYB***
80	0/6	3,27	1,6	128	10240	5,23	418,66
100	1/6	4,03	3,5	350	35000	14,11	1410,5
120	3/6	5,00	5,0	600	72000	25,0	3000
140	5/6	5,97	3,5	490	68600	20,89	2925,3
160	6/6	6,73	1,6	256	40960	10,77	1722,88
			15,2	1824	226800	75,99	9477,24

$$A_1 = \frac{\Sigma XYB - \frac{\Sigma XB \times \Sigma YB}{\Sigma B}}{\Sigma X^2 B - \frac{(\Sigma XB)^2}{\Sigma B}} = 0{,}045, \qquad (6.21)$$

$$A_0 = \frac{\Sigma YB - \Sigma XB \times A_1}{\Sigma B} = -0{,}422, \qquad (6.22)$$

$$ЛД_{50} = \frac{5 + 0{,}422}{0{,}045} = 120{,}49 \text{ мг/кг}, \qquad (6.23)$$

$$ЛД_{16} = \frac{4 + 0{,}422}{0{,}045} = 98{,}27 \text{ мг/кг}, \qquad (6.24)$$

$$ЛД_{84} = \frac{6 + 0{,}422}{0{,}045} = 142{,}71 \text{ мг/кг}, \qquad (6.25)$$

$$m = \pm\frac{142{,}71 - 98{,}27}{\sqrt{2 \cdot 18}} = \frac{44{,}44}{\sqrt{36}} = \frac{44{,}44}{6} = 7{,}4, \qquad (6.26)$$

$$ЛД_{50} = 120{,}49 \pm 7{,}4 \div 120{,}49\left(113{,}09 \div 127{,}89\right) \text{ мг/кг}.$$

6.2.3.6. Метод Ван дер Вердена. Метод «одной точки» Ван дер Вердена целесообразно использовать при сравнительной оценке токсичности нескольких веществ или установления видовой и половой чувствительности. Автор исходит из предположения, что если для одного вида животных прямая смертельных доз имеет определенный угол наклона, то и для другого вида животных эта прямая, хотя и будет располагаться на другой шкале действующих величин, но примерно под тем же углом наклона.

Сущность указанного метода, являющегося одним из вариантов пробит-анализа, заключается в следующем. Зная величину углового коэффициента наклона прямой смертельных доз для одного вида животных к оси абсцисс, через точку, соответствующую эффекту от испытанной на другом виде животных дозе, проводят прямую, параллельную первой. После этого графически определяют величину $ЛД_{50}$.

Однако следует отметить, что метод «одной точки» проверен только на двух видах животных одного отряда грызунов (мышей и крыс).

Среднюю ошибку $ЛД_{50}$ можно вычислить по предложенной автором ориентировочной формуле:

$$m = 1{,}25\frac{\sigma}{\sqrt{n}}, \qquad (6.27)$$

где m – средняя ошибка средней величины; σ – среднеквадратическое отклонение; n – число животных в группе,

$$\sigma = \frac{ЛД_{84} - ЛД_{16}}{2}. \qquad (6.28)$$

6.2.3.7. Метод Штабского. Б.М. Штабским и др. (1980) был предложен методический прием, упрощающий определение среднеэффективных доз изучаемых веществ. Автор считает, что для оценки этих величин достаточно испытания не более трех разных доз, одна из которых приводит к эффекту менее чем у 50% животных, другая – более чем у 50% животных, а третья является промежуточной. В этом диапазоне доз зависимость процента летальности Y от дозы X практически имеет вид прямой и может быть описана уравнением с угловым коэффициентом a:

$$y = ax + b, \tag{6.29}$$

где b – свободный член. Значение a и b находим из нормальной системы Гаусса.

$$a = \frac{Y_2 - Y_1}{X_2 - X_1}, \tag{6.30}$$

$$b = \frac{\Sigma Y - a \cdot \Sigma X}{n}, \tag{6.31}$$

где X_1 и X_2 – значения двух крайних из трех испытанных доз (приводящих к гибели менее и более 50% животных соответственно); Y_1 и Y_2 – соответствующие проценты летальности; n – число испытанных доз, равное 3.

Зная a и b, решаем уравнение относительно x:

$$x = \frac{y - b}{a}, \tag{6.32}$$

последовательно подставляя в формулу для определения свободного члена b значения Y, равные 50%. 84%, 16%, находим $ЛД_{50}$, $ЛД_{84}$, $ЛД_{16}$. Для определения доверительного интервала находим ошибку среднесмертельной дозы:

$$m = \frac{ЛД_{84} - ЛД_{16}}{\sqrt{2n}}, \tag{6.33}$$

где n – число использованных животных. При p = 0,05 по таблице t-распределения находим значение критерия Стьюдента при числе степеней свободы $f = n - 1$.

Окончательный результат представляем в виде: $ЛД_{50} \pm mt$.

Для примера обработаем вышеприведенные данные. Испытано пять доз: 80, 100, 120, 140, 160 мг/кг (каждая на 6 животных). Частота эффекта, соответственно, составила 0; 16,6; 50,0; 83,3; 100%. Оценим $ЛД_{50}$ как описано выше, отбросив $ЛД_0$ и $ЛД_{100}$. При этом X_1 = 100 мг/кг, X_2 = 140 мг/кг, Y_1 = 16,6%, Y_2 = 83,3%, Σx =100 + 120 + 140 = 360, Σy =16,6 + 50,0 + 83,3 = 149,9.

Находим a и b

$$a = \frac{83{,}3 - 16{,}6}{140 - 100} = 1.67, \quad b = \frac{149{,}9 - (1{,}67 \times 360)}{3} = -150{,}43.$$

Отсюда общее уравнение приобретает вид

$$x = \frac{y + 150{,}43}{1{,}67},$$

$$ЛД_{50} = \frac{50 + 150,43}{1,67} = 120,0 \text{ мг/кг},$$

$$ЛД_{16} = \frac{16 + 150,43}{1,67} = 99,66 \text{ мг/кг},$$

$$ЛД_{84} = \frac{84 + 150,43}{1,67} = 140,38 \text{ мг/кг},$$

$$n = 6 \times 3 = 18,$$

$$m = \frac{140{,}38 - 99{,}66}{\sqrt{2 \times 18}} = \frac{40{,}72}{6} = 6{,}79.$$

Для f = 18 – 1 = 17, при p = 0,05, t = 2,11, mt = 14,32.

В итоге $ЛД_{50}$ = 120,0 ± 14,32 мг/кг или 120,0 (105,68 ÷ 134,32) мг/кг.

Таким образом, величина $ЛД_{50}$ может быть определена различными методами анализа характеристических кривых. Как правило, различные методы дают весьма близкие результаты. В зависимости от цели и задачи эксперимента исследователь задается необходимой точностью получения результата и выбирает соответствующий метод анализа.

Необходимо помнить, что методы Беренса и Кёрбера дают возможность вычислить приближенные значения стандартных ошибок $ЛД_{50}$, тогда как методы пробит-анализа позволяют вычислить стандартную ошибку непосредственно из данных эксперимента, а также проводить конкретную оценку сравнительной активности двух соединений.

6.3. КЛАССИФИКАЦИЯ ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Прогрессирующий рост числа химических соединений, используемых в научных исследованиях, промышленности, сельском хозяйстве и быту, делает актуальной проблему систематизации знаний об их опасности для здоровья человека и окружающей природной системы. Одним из путей решения этой проблемы является классификация веществ по степени токсичности и опасности, которая обобщает результаты изучения закономерностей, связывающих между собой признаки или свойства вещества и их вредное воздействие на организм. На основе таких классификаций создаются законодательные и нормативные документы, применяемые во многих странах в области контроля опасности химических соединений.

На основе классификаций принимаются решения о запрещении или строгом ограничении использования веществ, контролируется их поступление на

национальный и региональный рынок, доступ к ним определенных групп потребителей, разрабатываются правила маркировки и упаковки, меры безопасности при производстве и применении, условия транспортировки и другие профилактические мероприятия. Гармонизация классификаций токсичности и опасности веществ на международном уровне играет чрезвычайно важную роль не только с точки зрения контроля, но и в преодолении определенных нетарифных барьеров в торговле между государствами.

Подавляющее большинство развитых стран и целый ряд международных и межправительственных организаций имеют (или имели) собственные классификации[11]. Среди последних отметим Всемирный банк (ВБ), Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), Европейское экономическое сообщество (ЕЭС), Международная морская организация (ММО), Организация объединенных наций (ООН), Совет экономической взаимопомощи (СЭВ). В то же время Боливия, Бурунди, Гаити, Гватемала, Замбия, Кения. Сенегал, Танзания. Филиппины, Чили и некоторые другие страны не имеют собственных государственных классификаций веществ по степени опасности и токсичности. Следует отметить, что некоторые страны руководствуются рекомендациями международных организаций или классификациями других стран. Как правило, выделяют 3 основные группы классификаций:

1. Классификация токсичности и/или опасности химических веществ.
2. Классификация пестицидов.
3. Транспортные классификации опасных грузов, которые имеют классы токсичности.

Наиболее широкое применение находят классификации, направленные на обеспечение безопасности работающих и/или безопасности массового потребителя. К указанным классификациям относятся: классификация опасных веществ, применяется в странах ЕЭС; классификация вредных веществ для воздуха рабочей зоны (ГОСТ 12 1.007–76), согласованная в рамках СЭВ и действующая в настоящее время в России; классификации для целей гигиены труда, используемые в Китае, Мексике, Финляндии и других странах.

В качестве критериев опасности применяются величины среднесмертельных доз ($ЛД_{50}$) и концентраций ($ЛК_{50}$), определяемых на лабораторных животных при трех основных путях поступления (введение в желудок, аппликация на кожу, ингаляция) в условиях однократного воздействия. Наряду с этим в Республике Корея используют два дополнительных критерия ($ЛД_{50}$) при внутривенном и внутрикожном введении. В законодательстве по контролю за химическими препаратами в Швейцарии и Югославии предусмотрены количественные критерии только при введении в желудок, хотя оговорена возможность корректировки классов опасности с учетом опасности вещества при других путях поступления.

Количество классов опасности, принятое в различных классификациях, варьирует от 2 (Финляндия, Япония) до 5 (Швейцария, США). В большинстве

[11] Некоторые из приведенных международных организаций уже не существуют (например, СЭВ), но сведения о них полезны в историческом аспекте.

классификаций использовано либо 3 класса опасности (ООН, ВБ, ММО, ЕЭС, пр.), либо 4 класса опасности (СЭВ, Китай, Мексика, Югославия)

Достаточно хорошее соответствие существует между критериями острой токсичности в классификациях ЕЭС, СЭВ и Китая (табл. 6.11, 6.12, 6.13). Следует иметь в виду, что в странах ЕЭС не устанавливается класс опасности для малотоксичных соединений, и те вещества, для которых $ЛД_{50}$ при введении в желудок превышает 2000 мг/кг и $ЛК_{50}$ превышает 20000 мг/м^3, формально не попадают ни в один из утвержденных классов.

Классификация ЕЭС использует такие специфические эффекты, как канцерогенез, мутагенез и тератогенез. Сведения о вышеперечисленных свойствах химических веществ учитывается в классификациях США, Китая, Сингапура, Югославии, Швейцарии, а также ММО при оценке опасности вредных веществ, транспортируемых морским путем. В России также учитываются мутагенные, канцерогенные и тератогенные свойства химических веществ, однако в официальной классификации эти критерии не указаны

Классификация ЕЭС дополнительно выделяет в особый класс вещества, опасные для окружающей среды. Критериями служат данные об острой токсичности для рыб и дафний и способность к биотической и абиотической деградации. Способность вещества наносить вред водным организмам рассматривается и в классификации ММО, где по острой токсичности для таких организмов вещества подразделяются на 5 категорий.

Таблица 6.11

Классификация химических соединений по токсичности, принятая в странах ЕЭС

Показатель	Классы токсичности веществ		
	I (очень токсичные)	II (токсичные)	III (вредные)
$ЛД_{50}$ (мг/кг) Введение в желудок	< 25	25–200	200–2000
$ЛД_{50}$ (мг/кг) Нанесение на кожу	< 50	50–400	400–2000
$ЛД_{50}$ (мг/м^3) Ингаляционное воздействие	< 500	500–2000	2000–20000

Таблица 6.12

Классификация химических соединений по токсичности, принятая в странах СЭВ

Показатель	Классы токсичности веществ			
	I (чрезвычайно токсичные)	II (высоко-токсичные)	III (умеренно токсичные)	IV (мало-токсичные)
$ЛД_{50}$ (мг/кг) Введение в желудок	< 15	15–150	151–5000	> 5000
$ЛД_{50}$ (мг/кг) Нанесение на кожу	< 100	100–500	501–2500	> 2500
$ЛД_{50}$ (мг/м^3) Ингаляционное воздействие	< 500	500–5000	5001–50000	> 50000

Таблица 6.13

Классификация химических соединений по токсичности, принятая в КНР

Показатель	Классы токсичности веществ			
	I (чрезвычайно токсичные)	II (высоко-токсичные)	III (умеренно токсичные)	IV (мало-токсичные)
$ЛД_{50}$ (мг/кг) Введение в желудок	< 25	25–500	500–5000	5000
$ЛД_{50}$ (мг/кг) Нанесение на кожу	< 100	100–500	500–2500	2500
$ЛД_{50}$ (мг/м^3) Ингаляционное воздействие	< 200	200–2000	2000–20000	20000

В отношении пестицидов существуют классификации ВОЗ и классификации, принятые в отдельных государствах. Количество классов опасности в упомянутых классификациях варьирует от 2 до 5, причем критериями являются среднесмертельные уровни, используемые во всех странах, но при разных путях поступления. Венесуэла и Польша рассматривают только один путь поступления пестицидов в организм – через желудок. ВОЗ и некоторые страны используют критерии при двух путях поступления (в желудок и через кожу). Страны ЕЭС учитывают среднесмертельные уровни при трех путях поступления. В качестве примера приведем также классификацию пестицидов (табл. 6.14).

Таким образом, экспериментально установив и затем рассчитав значение среднесмертельных уровней химического вещества, с помощью описанных в данной главе методов, можно отнести изученное вещество к соответствующему классу опасности, что имеет важное практическое значение.

Таблица 6.14

Классификация пестицидов и их характеристика по степени опасности для теплокровных животных (ГОСТ 17.13.04–82)

Наименования показателя	Характеристика пестицидов по классам*			
	1	2	3	4
Средняя смертельная доза для теплокровных животных при введении в желудок, мг/кг	> 1000	201 ÷ 1000	51 ÷ 200	<51
Способность к кумуляции в организме теплокровных животных	> 5	4 ÷ 5	1 ÷ 3	<1
Стойкость в почве, месяцы	< 1	1 ÷ 5	6 ÷ 24	> 24
Стойкость в водной среде, сутки	< 5	5 ÷ 10	11 ÷ 30	> 30
Способность к накоплению в водных организмах	< 50	50 ÷ 200	201 ÷ 1000	> 1000

* 1 – малоопасные; 2 – умеренно опасные; 3 – опасные; 4 – особо опасные.

Отсутствие единой международной классификации, несмотря на отдельные попытки их унификаций, затрудняет решение вопроса о принадлежности веществ к тому или иному классу токсичности и опасности, что, в свою очередь, отражается на решении смежных международных проблем, например, создание международной системы маркировки, международной карты данных по безопасности химических веществ и т. д. Эксперты многих стран мира и международных организаций признали проблему гармонизации существующих классификаций токсичности и опасности химических соединений приоритетной на международном уровне.

Глава 7

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ КУМУЛЯТИВНОГО И КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКОТОКСИКАНТОВ

В реальных условиях воздействие различных экотоксикантов на организм человека и животных в подавляющем большинстве случаев не носит однократного и изолированного характера. Как правило, длительный контакт с вредным веществом вызывает состояние хронического отравления. Само название «хроническое отравление» предполагает, что однократное введение повторно получаемой дозы яда не вызывает симптомов отравления, последнее происходит в результате так называемой кумуляции действия вредного вещества. Для практических целей токсикологии вопрос оценки кумулятивных свойств химических веществ особенно важен, поскольку корректная экстраполяция экспериментальных данных хронического опыта в процедуру эколого-гигиенического нормирования невозможна без знания степени кумуляции ксенобиотика.

Не менее важной является проблема оценки комбинированного эффекта химических веществ, одновременно или последовательно воздействующих на живые организмы. Таким образом, теоретическое обоснование количественных методов оценки кумулятивных свойств и комбинированного действия экотоксикантов – одна из актуальных задач современной токсикологии и ее разделов (экологической, сельскохозяйственной, промышленной, пищевой, военной и др.).

Настоящая глава посвящена рассмотрению некоторых методов количественной оценки кумулятивного и комбинированного действия экотоксикантов, наиболее часто используемых в экспериментальной практике.

7.1. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ КУМУЛЯТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКОТОКСИКАНТОВ

Термин «кумуляция» означает скопление. Еще в конце XVIII в. этим термином фармакологи обозначали внезапное усиление действия некоторых лекарственных средств при их длительном применении. В 1785 г. английский врач Уайтеринг, лечивший больных сердечной недостаточностью, впервые описал отравление наперстянкой при повторном приеме разовых терапевтических доз. В настоящее время различают две основные стадии (фазы) процесса острых отравлений экзогенного типа:

I – *токсикогенную*, когда токсическое вещество (яд), вызвавшее отравление, находится в организме в токсической концентрации и оказывает свое

действие на молекулярно-биохимические структуры и проявляется рядом патологических синдромов (шоком, асфиксией, комой, кровотечением);

II – *соматогенную*, наступающую после удаления токсического вещества, в виде последствий поражения, проявляющихся грубыми нарушениями гомеостаза и изменением структуры или функции различных органов и систем организма.

Таким образом, общий токсический эффект является результатом специфического токсического действия и неспецифических реакций организма – соматогенного действия.

В соответствии с классической теорией кумуляции при повторном поступлении вещества в организм различают два типа первичного кумулятивного эффекта, определяемого по взаимодействию его с тканью организма:

- прочное или необратимое связывание с рецепторами, ферментами и др. (при этом нарушение функции наступает постепенно, по мере накопления вещества);
- кратковременное взаимодействие вещества с биополимером (после взаимодействия вещество покидает рецепторное поле, но функция его остается еще некоторое время нарушенной).

В первом случае речь идет о *материальной*, во втором – о *функциональной* кумуляции.

Выделяют еще и третий тип кумулятивного эффекта – *смешанный*, который характеризуется тем, что хотя само вещество отсутствует на рецепторном поле, но с белковыми молекулами остаются надолго связаны его части молекулы, что впоследствии ведет к нарушению функции (рис. 7.1).

Примером материальной кумуляции может служить фиксация молекул или ионов ксенобиотика (например, ряда тяжелых металлов или мышьяка сульфгидрильными группами белков). Функциональная кумуляция, т.е изменения самого рецептора, сохраняющиеся после контакта с ксенобиотиком, может иллюстрироваться переходом гемоглобина в метгемоглобин при действии нитрита натрия. И, наконец, кумуляция смешанного типа, примером которой является присоединение фосфорильной группы тетраэтилпирофосфата к ферменту ацетилхолинэстерезе, в норме контролирующей передачу нервных импульсов.

Итак, под материальной кумуляцией понимают накопление самого яда в организме, тогда как функциональная кумуляция – суммирование вызванных ядом изменений. Без функциональной кумуляции невозможно хроническое отравление, которое подразумевает, что однократное введение повторно получаемой дозы яда еще не дает симптомов отравления, последнее происходит лишь в результате кумуляции действия ксенобиотика. Следует заметить, что нередко имеет место функциональная и материальная кумуляция одновременно. Примерами ядов, вызывающих хронические отравления в результате только функциональной кумуляции, могут быть: хлорированные углеводороды, бензол, бензин, тринитротолуол и многие другие газы и пары, легко выделяющиеся из организма с выдыхаемым воздухом, т. е. обладающие меньшими значениями коэффициентов распределения вещества между кровью и воздухом.

Рис. 7.1. Схема первичных молекулярных механизмов кумуляции (Штабский, 2013). Р – неизмененный рецептор Р′ – измененный рецептор; К – неизмененная молекула вещества; К′ и К″ – части молекулы вещества; РК – комплекс рецептора с веществом; РК′ – комплекс рецептора с частью молекулы вещества.

Материальная кумуляция обычно имеет место в случае хронического отравления металлами, но и здесь существенную роль в развитии заболевания играет функциональная кумуляция (известны случаи носительства ртути без клинических симптомов отравления).

Чем быстрее будут накапливаться вредные для организма последствия при систематическом воздействии ксенобиотика, тем большую потенциальную опасность в плане развития хронического отравления он представляет. Поэтому выяснение кумулятивных свойств ксенобиотиков является непременным условием разработки эколого-гигиенических нормативов их содержания в объектах производственной и окружающей среды. Чем выше кумулятивность экотоксиканта, тем жестче должен быть регламентирующий его норматив.

Токсический эффект зависит не только от дозы (концентрации) вещества, но и от времени воздействия. Напомним, что для приблизительной оценки токсичности ингаляционно действующих веществ, одновременно учитывающей концентрацию токсиканта и время его экспозиции, принято использовать величину «токсодоза», рассчитываемую по формуле, предложенной Габером в начале века:

$$W = C \cdot t, \qquad (7.1)$$

где W – токсодоза (мг·мин/м^3), C – концентрация токсиканта (мг/м^3), t – время экспозиции (мин).

Предполагается, что при непродолжительной ингаляции веществ одинаковый эффект (гибель лабораторных животных) будет достигаться как при краткой экспозиции высоких доз, так и более продолжительном воздействии веществ в меньших концентрациях, при этом произведение времени на концентрацию для вещества остается неизменным. Наиболее часто к определению токсодоз веществ прибегали для характеристики боевых отравляющих веществ. В триединой зависимости «доза – время – эффект» дозовая составляющая отражает токсичность, временная, в значительной мере, кумулятивные свойства вещества уже в процессе первичной токсигенной реакции. Через количество одномоментно экспонированных рецепторов (доза) реализуется токсичность, через длительность связывания (время) – первичный кумулятивный эффект. Его измеримая характеристика – период полусуществования биообъекта, который может совпадать или по-разному не совпадать с периодом нахождения самого вещества на рецепторном поле клетки (в биообъекте). Речь идет о биологическом времени, в масштабах которого и развиваются все метаболические и физиологические процессы в клетке, органах и системах, в организме в целом. Чем дольше период протекания первичной реакции, тем мощнее производные эффекты, сильнее химический прессинг на организм в целом и, в том числе, проявления кумуляции на организменном уровне. В ходе острого и хронического отравления, в развитии отдаленных последствий феномены кумуляции проявляются по-разному и в разной мере поддаются учету. Поэтому развернутую характеристику явлений кумуляции невозможно получить по какому-либо одному количественному показателю, например коэффициенту кумуляции, установленному на смертельном уровне. Для полной квалиметрической оценки необходимо специально проводить комплексное изучение кумулятивных свойств веществ по их качественным особенностям и по совокупности количественных критериев – от индекса кумуляции и среднего времени гибели животных в острых опытах до возможных характеристик скорости старения в геронтолого-токсикологических исследованиях.

Кумулятивные эффекты токсических веществ во многом определяются как спецификой взаимодействия токсиканта с биосубстратом, так и судьбой токсиканта в организме. Другими словами, токсикодинамикой и токсикокинетикой[12] токсического агента. *Токсикодинамика* занимается иучением механизмов, лежащих в основе токсического действия различных химических веществ, закономерностей формирования токсического процесса, его проявлений. Токсикодинамические характеристики веществ необходимы для разработки медикаментозных средств профилактики и терапии интоксикаций, средств и методов предупреждения и минимизации пагубных последствий развития иных форм токсического процесса; совершенствования методов диагностики интоксикаций и оценки функционального состояния лиц, подвергшихся воздействию сверхнормативных доз токсикантов; совершенствования

[12] Среди токсикологов бытует простое мнемоническое правило, облегчающее запоминание различия между токсикокинетикой и токсикодинамикой: «Токсикокинетика – это то, что организм делает с ядом, а токсикодинамика – это то, что яд делает с организмом».

методов оценки токсичности ксенобиотиков и биотестирования исследуемых проб.

Задача *токсикокинетики* – выяснение механизмов проникновения токсикантов в организм, закономерностей их распределения, метаболизма и выведения. Знания токсикокинетики ксенобиотиков необходимы для разработки надежной системы профилактики токсических воздействий; диагностики интоксикаций, выявления профессиональной патологии, проведения судебно–медицинской экспертизы; они широко используются в процессе создания новых противоядий и схем их оптимального использования; совершенствования методов форсированной детоксикации организма и т.д.

7.1.1. МЕТОД Ю.С. КАГАНА И В.В. СТАНКЕВИЧА

В основе распространенных методов оценки кумулятивности ксенобиотиков лежит учет общего количества вещества (в расчете на 1 кг массы тела экспериментального животного), которое может быть введено до его гибели при повторном введении несмертельных разовых доз. При ежедневном введении равных доз изучаемого соединения (1/5; 1/10; 1/20 $ЛД_{50}$), что предусматривается данным методом, оценка кумулятивных свойств фактически проводится по числу введений (дней) вещества, приводящему к гибели 50% подопытных животных *(n_{50}):*

$$K_{кум} = \frac{n_{50} \cdot d}{ЛД_{50}}, \qquad (7.2)$$

где d – величина ежедневно вводимой дозы (кратной $ЛД_{50}$); $ЛД_{50}$ – среднесмертельная доза при однократном введении, учитываемая, как правило, на 14-е сутки, $K_{кум}$ – коэффициент кумуляции. Данный метод не предусматривает ограничений по времени, и поэтому процедура установления $K_{кум}$, особенно при выборе низких разовых доз (1/20 $ЛД_{50}$), может длиться 2–4 месяца.

Поскольку значение $K_{кум}$ вводимых разовых доз, кратных $ЛД_{50}$, зависит от значения d, сопоставление степени кумулятивности вредных веществ правомерно проводить только при одинаковой величине $d/ЛД_{50}$. Для сравнительной оценки кумулятивных свойств химических веществ пользуются классификацией (табл. 7.1), предложенной Л.И. Медведь и др. (1968).

Таблица 7.1

Классификация кумулятивного действия ксенобиотиков

Степень кумуляции	Значения $K_{кум}$
Сверхкумуляция	< 1
Выраженная кумуляция	1–3
Умеренная кумуляция	3–5
Слабая кумуляция	> 5

Пример

При ежедневном введении белым крысам меркаптофоса (фосфорорганического пестицида) в дозе 0,35 мг/кг (0,1 $ЛД_{50}$) гибель 50% животных наблюдалась на 100-е сутки.

По формуле (7.2) находим $K_{кум}$:

$$K_{кум} = \frac{n_{50} \cdot d}{ЛД_{50}} = \frac{100 \cdot 0{,}1 ЛД_{50}}{ЛД_{50}} = \frac{100 \cdot 0{,}35 \text{ мг/кг}}{3{,}5 \text{ мг/кг}} = 10 .$$

Таким образом, по значению $K_{кум}$ = 10 меркаптофос можно отнести к слабокумулятивным веществам.

7.1.2. МЕТОД Б.М. ШТАБСКОГО

Данный метод позволяет прогнозировать кумулятивные свойства вещества уже по результатам опыта по установлению острой токсичности ($ЛД_{50}$), т. е. в течение 14 суток. Количественным показателем кумулятивных свойств ксенобиотика является индекс кумуляции (I_k), который находят по формуле

$$I_k = 1 - \frac{D_2}{D_1}, \qquad (7.3)$$

где D_1 – среднесмертельная доза, приводящая к гибели в течение первых суток после введения; D_2 – среднесмертельная доза, приводящая к гибели к 14-м суткам. Таким образом, для установления I_k проводят развернутый токсикологический эксперимент по определению $ЛД_{50}$, которую вычисляют дважды: через 24 часа (1 сутки) и через 14 суток. Авторы предлагают все химические вещества условно разделить на две группы. К 1–й группе относят все те вещества, при однократном введении которых гибель животных растянута во времени так, что $D_2 < D_1$ (например, многие хлорорганические соединения). Для веществ 1-й группы эти две дозы существуют реально и могут быть установлены экспериментально. Ко 2-й относят такие вещества, при введении которых все затравленные животные погибают только вскоре после введения им вещества, т. е. $D_1 = D_2$ (например, многие фосфорорганические соединения). Для веществ 2-й группы реально существует только доза D_1 (гибель в течение 24 часов). Известно, что чем медленнее выделяется яд из организма, тем действие его длительнее и энергичнее. Очевидно, что поздние сроки наступления гибели при однократном введении веществ 1-й группы обусловлены относительно длительным присутствием их (или развитием первично вызванного ими эффекта) в органе, поражение которого приводит к летальному исходу. Следовательно, вещества 1-й группы по кумулятивным свойствам превосходят вещества 2-й группы. Поэтому кумулятивные свойства веществ можно прогнозировать уже по результатам острого опыта на основании индекса ку-

муляции [см. (7.3)]. При этом, для веществ 1-й группы $I_k > 0$ и тем больше, чем кумулятивнее вещество; для второй группы ($D_1 = D_2$) $I_k = 0$.

Для сравнительной оценки кумулятивности веществ по методу ***Б.М. Штабского*** можно воспользоваться табл. 7.2.

Таблица 7.2

Критерии оценки степени кумуляции по методу Б.М. Штабского

Степень кумуляции	**Значения $K_{кум}$**
Сверхкумуляция	0,5
Выраженная кумуляция	$0 < I_k < 0,5$
Умеренная кумуляция	0
Слабая кумуляция	0

Пример

Вычислить индекс кумуляции (I_k) меркаптофоса, если известно, что в остром токсикологическом эксперименте все животные погибли в течение первых суток (табл. 7.3).

Среднесмертельная доза (ЛД$_{50}$) меркаптофоса, установленная с учетом гибели животных на 1–й и 14–й дни, составила: $D_1 = D_2$ = 3,5 мг/кг. Отсюда $I_k = 1 - D_2 / D_1 = 1 - 3,5 / 3,5 = 0$. Таким образом, сравнение значений индекса кумуляции $l_k = 0$ и коэффициента кумуляции $K_{кум} = 10$ (см. пример в разделе 7.1.1.) дает сопоставимые результаты, свидетельствующие о слабо выраженных кумулятивных свойствах меркаптофоса.

Таблица 7.3

Смертность белых крыс при введении им в желудок меркаптофоса

Доза, в мкг/кг	**Число животных в опыте**	**Время гибели, ч**				**Летальность,%**
		1	**2**	**3–24**	**2–14 дней**	
1	8	–	–	–	–	0
2	8	–	–	2	–	25
3	8	–	2	1	–	37,5
4	8	–	1	3	–	50
5	8	3	2	3	–	100

При установлении коэффициента кумуляции $K_{кум}$ по методу *Ю.С. Кагана* и *В.В. Станкевича* в подостром эксперименте возникает опасность недооценки кумулятивных свойств некоторых высокомолекулярных соединений, в частности хлорорганических пестицидов. Для корректировки $K_{кум}$ авторы предлагают эмпирическую формулу, позволяющую вычислить т. н. стандартизированный коэффициент кумуляции

$$K_{кум}^{ст} = \frac{D_2}{D_1} \cdot K_{кум}, \qquad (7.4)$$

где D_2 – ЛД$_{50}$ 14-го дня; D_1 – ЛД$_{50}$ 1–го дня; $K_{кум}$ – коэффициент кумуляции по методу Ю.С. Кагана и В В. Станкевича.

Пример

При однократном введении белым крысам γ–изомера гексахлорцик–логексана (γ–ГХЦГ) установлены $ЛД_{50}$ для 14 суток наблюдения – 170 мг/кг (D_2); $ЛД_{50}$ для 1 суток – 450 мг/кг (D_1). Индекс кумуляции (I_k) составил:

$$I_k = 1 - \frac{D_2}{D_1} = 1 - \frac{170}{450} = 0,6,$$

следовательно, данное вещество является сверхкумулятивным (табл. 7.2).

При ежедневном введении γ-ГХЦГ в дозе 8,5 мг/кг (0,05 $ЛД_{50}$)), установленной с учетом гибели к 14-м сут. (т.е. D_2), гибель 50% животных наблюдалась на 70-е сутки. Таким образом, суммарная доза составила:

$$n_{50} \cdot d = 70 \cdot 8,5 \text{ мг/кг} = 595,0 \text{ мг/кг}.$$

Коэффициент кумуляции по *Ю.С. Кагану* и *В.В. Станкевичу* равен:

$$K_{\text{кум}} = n_{50} \cdot d \,/\, ЛД_{50} = 70 \cdot 8,5 / 170 = 595 / 170 = 3,5,$$

что позволяет отнести γ-ГХЦГ к умереннокумулятивным веществам.

Стандартизированный коэффициент кумуляции ($K_{\text{кум}}$) с учетом полученных данных в этом случае равен:

$$K_{\text{кум}}^{\text{ст}} = \frac{D_2}{D_1} \cdot K_{\text{кум}} = \frac{170}{450} \cdot 3,5 = 1,3.$$

Таким образом, при оценке кумулятивных свойств γ-ГХЦГ по стандартизированному $K_{\text{кум}}$ это вещество должно быть отнесено к группе препаратов с выраженными кумулятивными свойствами (см. табл. 7.1), что соответствует высокому индексу кумуляции (I_k = 0,6; см. табл. 7.2) и имеющимся представлениям о кумулятивном действии хлорорганических пестицидов. Вычисление же $K_{\text{кум}}$ по методу Ю.С. Кагана и В.В. Станкевича дает заниженные результаты.

7.1.3. МЕТОД С.М. НОВИКОВА И СОАВТОРОВ

В случае анализа кумулятивных свойств ксенобиотиков, не вызывающих гибели животных в первые сутки опыта, рассчитать I_k и $K_{кум}$ не представляется возможным. Авторы предлагают в качестве эмпирического эквивалента следующие соотношения:

$$I_k = 1 - \frac{1}{\sqrt{ET_{50}}}; \qquad (7.5)$$

$$K_{\text{кум}}^{\text{ст}} = \frac{K_{\text{кум}}}{\sqrt{ET_{50}}}, \qquad (7.6)$$

где ET_{50} – среднее время гибели животных в остром эксперименте (процедуру вычисления ET_{50} см. в 7.2); $K_{\text{кум}}$ – коэффициент кумуляции по методу Ю.С. Кагана и В.В. Станкевича.

7.1.4. МЕТОД С.П. ЧЕРКИНСКОГО И СОАВТОРОВ

Метод предусматривает стандартизированную процедуру установления коэффициента кумуляции ($K_{кум}$): ежедневно вводимая доза ксенобиотика должна составлять 1/5 $ЛД_{50}$ (установленную с учетом гибели животных к 14-м суткам); число животных n = 10; длительность опыта (T) составляет 20 суток. С учетом этих ограничений авторы предлагают для вычисления $K_{кум}$ пользоваться формулой:

$$K_{кум} = \frac{D_k}{ЛД_{50} \cdot n} \cdot \frac{50}{a}, \qquad (7.7)$$

где D_k – суммарная доза для всех животных (как выживших, так и погибших); n – число животных, равное 10; $ЛД_{50}$ – среднесмертельная доза; a – процент погибших животных в течение 20 дней наблюдения. Метод дает возможность оценить коэффициент кумуляции $K_{кум}$ в случае, если погибнет хотя бы одно животное из 10 (т. е. 10%).

Пример

Рассчитать $K_{кум}$, если при ежедневном (в течение 20 дней) введении 10 белым крысам вещества в дозе 1/5 $ЛД_{50}$ (0,2 $ЛД_{50}$) к исходу эксперимента погибло 1 животное (10%).

Суммарная доза $D_k = 0,2\ ЛД_{50} \cdot 10(\text{животных}) \cdot 20\ \text{дней} = 40\ ЛД_{50}$.

Процент гибели a = 10%.

$$K_{кум} = \frac{D_k}{ЛД_{50} \cdot n} \cdot \frac{50}{10} \cdot \frac{40ЛД_{50}}{ЛД_{50} \cdot 10} \cdot \frac{50}{10} = 4 \cdot 5 = 20.$$

Таким образом, для низкокумулятивных веществ $K_{кум}$ может принимать максимальное значение 20. Для высококумулятивных веществ значение $K_{кум} < 5$.

7.1.5. МЕТОД ЛИМА И СОАВТОРОВ

Схема эксперимента предусматривает ступенчатое (в 1,5 раза) повышение дозы вводимого вещества через каждые 4 дня (табл. 7.4).

Таблица 7.4

Схема введения ксенобиотика по методу Лима и др. (Lim et al.,1961)

Сутки	Доли $ДЛ_{50}$
1–4	0,1
5–8	0,15
9–12	0,22
13–16	0,34
17–20	0,50
21–24	0,75
25–28	1,12

Предлагая свой тест, авторы исходили из возможности выявления как кумуляции, так и привыкания. Режим затравок фактически способствует выявлению адаптивных свойств организма к данному яду. Отсюда одно из распространенных названий этого метода – **«тест субхронической токсичности».** Расчет $K_{кум}$ можно производить по тому же уравнению, что и в методе Ю.С. Кагана и В.В. Станкевича, однако значимость $K_{кум}$ здесь иная, так как изменен режим затравки. Одно из преимуществ данного метода заключается в почти постоянной и не слишком большой (24 ± 4 суток) длительности эксперимента.

Связь между коэффициентами кумуляции, установленными по методу Ю.С. Кагана и В.В. Станкевича ($K_{кум1}$) и по методу Лима и др. ($K_{кум2}$), хорошо аппроксимируется уравнением, предложенным С.М. Новиковым и др. при $K_{кум1} < 5$:

$$K_{кум2} = 0,49K_{кум1} + 0,55. \qquad (7.8)$$

Таблица 4.5 дает возможность провести сравнительную оценку кумулятивности веществ, рассчитанную этими методами.

Таблица 4.5

Сравнительная оценка коэффициента кумуляции методами Ю.С. Кагана и В.В. Станкевича ($K_{кум1}$), Лима и др. ($K_{кум2}$)

Группы кумулятивности	Коэффициенты кумулятивности	
	$K_{кум1}$	$K_{кум2}$
Сверхкумулятивность	< 1	< 1
Выраженная кумуляция	1–2	1–2
Умеренная кумуляция	3–5	2–3,3
Слабая кумуляция	> 5	> 3,3

Таким образом, показатель функциональной кумуляции, называемый коэффициентом (индексом) кумуляции, фактически так или иначе отражает сроки гибели экспериментальных животных при повторном введении им одной и той же или повышающейся доли от среднесмертельной дозы ксенобиотика. Следует подчеркнуть, что смертельный исход – наиболее определяемый показатель для оценки кумуляции, однако в ряде случаев приходится пользоваться более универсальной формулой:

$$K_{кум} = \frac{ED_{50chronica}}{DL_{50acuta}}, \qquad (7.9)$$

где $ED_{50chronica}$ – доза, вызывающая у 50% животных соответствующий (нелетальный) эффект, а $DL_{50acuta}$ – среднесмертельная доза при однократном введении. Применение этой формулы может быть необходимо при отсутствии у животных смертельных исходов в хроническом эксперименте, однако этот факт не позволяет сделать заключение об отсутствии кумулятивного эффекта. В этих случаях кумулятивное действие должно оцениваться по изменению соответствующих интегральных или специфических, для данного ксенобиотика, показателей.

7.2. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКОТОКСИКАНТОВ

На производстве и в быту биологические системы, как правило, подвергаются воздействию более чем одного вещества. При этом большинство соединений, действуя (в достаточной дозе) таким образом изменяют состояние организма, что последующий контакт с другими ксенобиотиками приводит к формированию эффектов, качественно и количественно отличающихся от вызываемых ими у интактных организмов, т.е. вызывают аллобиотические состояния[13]. Оценка многофакторных воздействий на любую биосистему и экосистему представляет собой серьезную проблему. При санитарно-гигиеническом нормировании взаимодействие большинства факторов принимается во внимание не достаточно полно. Формально учитывается лишь взаимодействие между некоторыми химическими соединениями, биологическое действие которых считается более или менее сходным. При этом принимается, что совместное воздействие таких веществ на организм всегда *аддитивно,* т.е. их биологический эффект суммируется. В частности, при оценке загрязнения атмосферы некоторые вещества объединяют в так называемые «группы суммации (суммирования)». При оценке загрязнения вод аддитивным считается совместное воздействие на организм всех веществ с одинаковым «лимитирующим признаком вредности» (ЛПВ). При этом все вещества, для которых лимитирующим является признак «токсикологический», рассматриваются совокупно. Соответственно, любые токсические эффекты принимаются аддитивными, независимо от точки приложения, особенностей метаболизма конкретного токсиканта и его реального взаимодействия с другими ядовитыми компонентами данной смеси.

Для оценки токсичности смеси веществ, действие которых считается сходным и, следовательно, принимается строго аддитивным, полагается суммировать реализованные доли ПДК каждого из компонентов:

$$\sum_{i=1}^{n} \frac{C_i}{\text{ПДК}_i}, \qquad (7.10)$$

где n – количество веществ из «группы суммирования» в изучаемой смеси, C_i и ПДК_i – концентрация и ПДК i-го ингредиента смеси, соответственно. Для нескольких (n) взаимодействующих факторов предельно допустимыми следует считать все те сочетания их значений, при которых нагрузка на организм оказывается предельно допустимой.

Совокупность всех сочетаний значений взаимодействующих факторов, при которых биосистема испытывает одинаковый уровень воздействия, принято называть «**изоболой**» (от гр. «ισος» – равное и «βολος» – изменение) (Шуй-

[13] Аллобиотические состояния могут развиваться в результате острых, подострых и хронических воздействий, быть этапом на пути развития интоксикации (субклинические формы патологии различных органов и систем), последствием перенесенного отравления (остаточные явления) и, наконец, самостоятельной формой токсического процесса.

ский и др., 2004). В частности, предельно допустимый уровень действия группы факторов определяется их изоболой, соответствующей предельно допустимой нагрузке на организм. Если речь идет о смеси нескольких веществ, действительно взаимодействующих строго *аддитивно*, то изобола, определяющая предельно допустимые сочетания компонентов смеси, описывается уравнением:

$$\sum_{i=1}^{n} \frac{C_i}{\text{ПДК}_i} = 1 . \qquad (7.11)$$

В простейшем случае, для двух аддитивно взаимодействующих веществ, график этой изоболы представляет собой отрезок прямой (рис. 7.1).

Рис. 7.1. График изоболы предельно допустимых сочетаний концентрации двух взаимодействующих веществ

Соответственно, норматив концентрации ингредиентов смеси аддитивно взаимодействующих компонентов определяется неравенством:

$$\sum_{i=1}^{n} \frac{C_i}{\text{ПДК}_i} \le 1 . \qquad (7.12)$$

Принятая система нормирования загрязненности окружающей среды допускает, что практически любое взаимодействие компонентов токсичной смеси, которым нельзя пренебречь, может быть с приемлемой точностью описано аддитивной моделью (исключение составляют лишь несколько пар соединений, за которыми признается потенцирование – взаимодействие более сильное, чем по аддитивной модели). Концентрации прочих химических соединений, не входящих в группы суммирования (а также всех остальных экологических факторов), принято сравнивать с их предельно допустимыми концентрациями (уровнями) по отдельности, без учета взаимодействия.

Однако реальные воздействия на природные экосистемы создаются целым комплексом естественных и антропогенных факторов физической, химической и биологической природы, сложно взаимодействующих между собой. Часто именно эффект взаимодействия факторов и определяет уровень их результирующей нагрузки на биологические объекты. Иллюстрацией основных форм межфакторного взаимодействия могут служить графики изобол для двух гипотетических веществ, приведённые на рис. 7.2.

Рис. 7.2. Графики изобол предельно допустимых сочетаний концентрации двух гипотетических веществ: 1) почти не взаимодействующих между собою; 2) взаимодействующих антагонистически; 3 – 6) взаимодействующих синергически: 3) взаимодействие двух веществ аддитивно; 4) каждое из веществ усиливает эффект второго менее чем аддитивно; 5) каждое из веществ усиливает эффект второго более чем аддитивно; 6) первое вещество усиливает эффект второго менее чем аддитивно; второе вещество усиливает эффект первого более чем аддитивно

Таким образом, под комбинированным действием понимают одновременное или последовательное воздействие на организм двух или более токсических веществ, поступающих одним и тем же путем (ингаляционно, перорально и т. д.).

При характеристике типов комбинированного действия[14] химических веществ, выделяют следующие основные:

1. **Аддитивное действие** – такой тип комбинированного действия химических веществ, при котором их совместный эффект равен сумме эффектов каждого из веществ при изолированном воздействии на организм.

2. **Потенцирование** (более, чем аддитивное действие) – такой тип комбинированного действия, при котором совместный его эффект превышает сумму

[14] Аддитивный синергизм (суммация), потенцирующий синергизм, антагонизм иногда объединяют под общим термином «*коергизм*» (Куценко, 2002). Явление коергизма лежит в основе разработки средств этиотропной (антидоты), патогенетической и симптоматической терапии отравлений.

эффектов каждого из веществ, входящих в комбинацию, при их изолированном воздействии на организм.

3. **Антагонизм** (менее, чем аддитивное) – такой тип комбинированного действия, при котором совместный эффект меньше суммы эффектов каждого из веществ, входящих в комбинацию, при их изолированном воздействии.

Наряду с вышеприведенным определением аддитивности, в современной токсикологии широко используется также другое понятие, основанное на предположении, что при однонаправленном действии смесь ведет себя как одно вещество. С этих позиций аддитивное действие определяется как такой тип комбинированного действия, при котором отдельные компоненты смеси являются взаимозаменяемыми в пропорциональных частях их изоэффективных доз. Так, если выразить через (C_1 C_2, ..., C_n) дозы или концентрации компонентов смеси, а через (M_1, M_2, ..., M_n) их изоэффективные дозы или концентрации (например, $ЛД_{50}$ или ПДК), то в уравнении:

$$(\frac{C_1}{M_1}+\frac{C_2}{M_2}+...+\frac{C_n}{M_n})\cdot K=1 \qquad (7.13)$$

в случае аддитивности коэффициент K принимает значение 1. Другими словами, эффект действия смеси равен эффекту, наблюдаемому при изолированном воздействии компонентов в соответствующих изоэффективных дозах или концентрациях. Действию, более чем аддитивному (потенцированию), будет соответствовать значение коэффициента $K > 1$; действию, менее чем аддитивному (антагонизм) – значение $K < 1$.

Условия токсикометрической взаимозаменяемости так называемых изоаддитивных веществ (веществ однонаправленного действия) в общем виде были сформулированы еще Н.В. Лазаревым (1938).

Частным случаем уравнения для смеси веществ, характеризирующейся простой аддитивностью, является формула *А.Г. Аверьянова,* широко используемая для оценки качества воздуха (производственных помещений и атмосферы населенных мест):

$$(\frac{C_1}{ПДК_1}+\frac{C_2}{ПДК_2}+...+\frac{C_n}{ПДК_n})\cdot K\le 1, \qquad (7.14)$$

где C – фактические концентрации вредных веществ; ПДК – соответствующие значения гигиенического норматива (предельно допустимая концентрация).

Для характеристики токсических эффектов ксенобиотика, поступающего в организм одновременно разными путями (с пищей, водой, вдыхаемым воздухом), целесообразно использовать термин «*комплексное действие*». В этом случае для оценки комплексного действия вещества предложена формула суммационного эффекта:

$$\left(\frac{C_{\text{в.р.з.}}}{\text{ПДК}_{\text{в.р.з.}}}+\frac{C_{\text{атм.}}}{\text{ПДК}_{\text{атм.}}}+\frac{C_{\text{вода}}}{\text{ПДК}_{\text{вода}}}+\frac{\text{Д}_{\text{пища}}}{\text{ПДУ}_{\text{пища}}}\right)\cdot K\le 1, \qquad (7.15)$$

где C – фактические концентрации (дозы – Д) ксенобиотиков в объектах производственной (в.р.з. – воздух рабочей зоны) и окружающей среды, ПДК – соответственно гигиенические нормативы их содержания в объектах производственной и окружающей среды, ПДУ – предельно допустимый уровень в пище. Следует отметить, что использование предложенной формулы, по–видимому, справедливо для случая, когда гигиенические нормативы вещества в различных средах изоэффективны (т.е. биологически эквивалентны). Хотя в большинстве изученных случаев говорить о биологической эквивалентности не приходится, тем не менее в первом приближении можно считать, что комплексные показатели состояния окружающей среды, хотя и не дают полной характеристики реальной нагрузки, но, несомненно, способствуют развитию методов ее определения.

Ниже рассмотрены некоторые методы количественной оценки комбинированного эффекта, адаптированные для учебных целей.

7.2.1. ГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗОБОЛ

Своему возникновению и развитию метод изобол обязан фармакологическим исследованиям. При изучении комбинированного биологического действия двух веществ фармакологами применяется *графический метод* Лёве, позволяющий наглядно представить и проанализировать их изоболы. Для этого в экспериментах выявляются различные сочетания значений концентрации двух комбинируемых препаратов, вызывающие одинаковую реакцию тест–объектов. Эти сочетания значений наносятся на график в системе двух координат, соответствующих величинам концентрации изучаемых веществ. Полученные точки соединяются линией, более или менее точно соответствующей искомой изоболе. Характер графика изоболы позволяет судить об особенностях взаимодействия двух изучаемых веществ: определить, является ли оно антагонистическим или синергическим, соответствует ли аддитивной модели и т.д. Математического описания изоболы при этом не производится. Анализ изобол с использованием эмпирических результатов является несомненным преимуществом метода Лёве. Это намного предпочтительнее, чем произвольно предписывать комбинируемым факторам или строгую аддитивность, или абсолютную взаимную независимость.

Итак, изобологграфический анализ – это графический метод, который позволяет проследить поведение двух (или более чем двух) лекарственных средств при использовании их в комбинации. Изобола – это контур, который соединяет две экспериментально установленные дозы для пары лекарственных средств, которые вызывают определенную ответную реакцию. В свою очередь, изобологграммы – это диаграммы изобол, помещенные на график в прямоугольных координатах. Эффект воздействия считается суммированным, когда невозможно провести различие между двумя препаратами (в соотноше-

нии, соответствующем их относительной эффективности). В классическом представлении Лёве, суммирование эффектов лекарственных средств представляется в виде прямой линии на изобологрaмме. При синергизме изобола представляет собой вогнутую кривую, в случае аддитивного действия – прямую линию, при антагонизме – выпуклую кривую. Таким образом, можно квалифицировать эффект исследуемого лекарственного взаимодействия как суммирующий (аддитивный), потенцирующий (синергический), или антагонистический.

Рассмотрим комбинированное действие на примере антибиотиков (рис. 7.3). Взаимодействие антимикробных средств можно оценить по величине индекса МПК (минимальной подавляющей концентрации), под которым понимают первую наименьшую концентрацию антибиотика (из серии последовательных разведений), где визуально не определяется бактериальный рост. Измеряется МПК в мг/л или мкг/мл. Для этого достаточно сравнить разведения антибиотиков, расположенные вдоль пунктирной линии (отмечены крестиками). Если антибиотики действуют синергично, то индекс МПК < 1, если аддитивно – индекс МПК = 1, если антагонистически – индекс МПК > 1. Числа в скобках представляют собой величину индекса МПК.

Рис. 7.3. Изобологрaфический анализ комбинированного действия компонентов бинарной смеси антибиотиков А и Б

Графический метод анализа изобологрaмм имеет ряд недостатков. Во-первых, результаты оценки характера взаимодействия веществ не имеют численного выражения и поэтому не могут использоваться для количественной оценки многофакторного воздействия. Во-вторых, для сложных комбинаций, создаваемых тремя и более факторами, графическое представление изобол вообще невыполнимо. Очевидна необходимость разработки более адекватной,

универсальной количественной меры многофакторных воздействий на биосистемы. Искомый показатель должен верно учитывать эффект взаимодействия факторов любой природы, в любой их комбинации и с высокой точностью описывать их изоболы, т.е. быть строго *изоболическим*. Только в этом случае каждому конкретному значению показателя воздействия будет соответствовать конкретный уровень изменения биосистемы.

Следовательно, *критерием изоболичности показателя результирующего многофакторного воздействия на биосистему* является *соответствие каждого его значения только одной конкретной изоболе,* т.е. совокупности всех тех сочетаний факторных значений, которые вызывают определённое равное изменение данной биосистемы (Шуйский и др., 2004). Если же конкретному значению какого-либо показателя результирующего многофакторного воздействия соответствуют такие сочетания значений комбинируемых факторов, на которые биосистема может реагировать по-разному – следовательно, значения данного показателя соответствуют не одной изоболе, а множеству различных изобол. Иными словами, такой показатель не является изоболическим, не детерминирует строго определённую реакцию биосистемы и не может быть корректной мерой комбинированного воздействия. Вместе с тем в настоящее время разработан ряд аналитических методов анализа комбинированных эффектов, значительно упрощающих процедуру анализа.

7.2.2. МЕТОД АНАЛИЗА КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ СМЕСИ ВЕЩЕСТВ С ПОСТОЯННЫМ СООТНОШЕНИЕМ КОМПОНЕНТОВ

Этот метод применим к анализу характера комбинированного действия смеси веществ, включающих любое количество ($n \geq 2$) компонентов, взятых в любых постоянных соотношениях по массе. Характер комбинированного действия смеси выявляют и оценивают на основе сопряженного анализа дозовых зависимостей, полученных для смеси и отдельных ее компонентов. Алгоритм проведения экспериментальной процедуры и последующих реагентов включает следующие основные шаги:

1. С помощью метода пробит-анализа, оценивают среднесмертельную дозу (концентрацию) ($ЛД_{50}$, $ЛК_{50}$) с учетом доверительного интервала для исследуемой смеси и каждого (i-го) ее компонента ($i = 1, 2, ..., n$).

2. Зная величину $ЛД_{50}$ ($ЛК_{50}$) смеси и процентное соотношение масс слагающих ее компонентов, рассчитывают удельную дозу ($Д_i$) в мг/кг (или удельную концентрацию C_i в мг/м^3) i-го компонента в составе $ЛД_{50}$ ($ЛК_{50}$) данной смеси:

$$Д_i = ЛД_{50} \cdot \frac{a_i}{100}, \qquad (7.16)$$

где $Д_i$ – удельная доза i-го компонента мг/кг; $ЛД_{50}$ – смертельная доза мг/кг, установленная для смеси, a – процентное содержание i-го компонента в смеси.

3. С помощью уравнения зависимости «доза (концентрация) – эффект» или по соответствующему графику, полученным в отдельности для каждого веще-

ства – компонента исследуемой смеси, находят процент гибели животных (эффект E_i), соответствующий величине $Д_i(C_i)$, определенной по п. 2.

4. Суммируют эффекты E_i всех n компонентов смеси ($\Sigma E_i = E_1 + E_2 + ... + E_n$) и по графику или уравнению зависимости «доза – эффект», полученному для исследуемой смеси, находят эквивалентную дозу $Д_k$, (эквивалентную концентрацию (C_k)), соответствующую полученному значению ΣE_i.

В случае простой суммации (аддитивное действие) $\Sigma E_i = 50\%$ и эквивалентная доза $Д_k = ЛД_{50}$ смеси. Если $\Sigma E_i < 50\%$, то доза $Д_k < ЛД_{50}$ смеси и мы имеем дело с эффектом потенцирования. Наконец, когда $\Sigma E_i > 50\%$, эквивалентная доза $Д_k > ЛД_{50}$ смеси и комбинированное действие характеризуется антагонизмом.

5. Для расчета численной характеристики комбинированного действия смеси необходимо установить коэффициент комбинированного действия, $K = ЛД_{50} / Д_k$, где $ЛД_{50}$ – среднесмертельная доза смеси с учетом доверительного интервала, $Д_k$ – эквивалентная доза. Значения $K = 1$; $K > 1$; $K < 1$ (с учетом доверительного интервала сравниваемых величин) указывают, соответственно, на аддитивность, факт и степень потенцирования или антагонизма по токсичности.

Пример

Рассмотрим процедуру определения характера комбинированного действия смеси, состоящей из 75% метилбензилового эфира 2-хлорацетоуксусной кислоты (МВХ) и 25% монохлорацетона (МХА), если в острых опытах на белых крысах методом пробит-анализа, установлены следующие параметры токсикометрии ($ЛД_{50}$):

смесь $ЛД_{50}$ = 430,0(300,0÷570,0) мг/кг,

МБХ $ЛД_{50}$ = 860,0(730,0÷990,0) мг/кг,

МХА $ЛД_{50}$ = 180,0(150,0÷220,0) мг/кг.

Поскольку реальная частота летального эффекта не может быть ниже 0% и выше 100%, то в случае, когда $\Sigma E_i < 1\%$ или $\Sigma E_i > 100\%$, эквивалентные дозы $Д_k$ находят соответственно для $\Sigma E_i = 1\%$ и $\Sigma E_i = 100\%$. а значения K приводят со знаком «больше» или «меньше».

Решение

1. В составе $ЛД_{50}$ смеси находим удельные дозы $Д_1$ и $Д_2$, соответственно, для МБХ и МХА:

$$Д_1 = \frac{430 \cdot 75}{100} = 322{,}5 мг/кг, \; Д_2 = \frac{430 \cdot 25}{100} = 107{,}5 мг/кг.$$

2. С помощью графиков «доза – эффект» 1 и 3 (рис. 7.4.), построенных соответственно, для МХА и МБХ, находим, что логарифму доз $Д_1$ и $Д_2$ ($\lg Д_1 = \lg 322{,}5 = 2{,}5085$; $\lg Д_2 = \lg 107{,}5 = 2{,}0314$) соответствуют пробиты 1,75 и 3,80. После перевода пробитов в проценты (см. Приложение к главе 7) получаем, что удельной дозе $Д_1$ соответствует эффект $E_1 < 0{,}1\%$ (МБХ), а удельной дозе

$Д_2$ – эффект E_2 = 11,6% (МХА). Сумма эффектов ΣE_i = (< 0,1%) + 11,6% ≈ 11,6% или, переходя к пробитам, – 3,80.

3. По графику 2 «доза – эффект», построенному для смеси, находим, что пробиту 3,80 соответствует логарифм эквивалентной дозы « ($\lg Д_k$) смеси, равной 2,32. Следовательно, эквивалентная доза $Д_k$ смеси равна 208,9 мг/кг.

4. Находим коэффициент комбинированного действия смеси K.

$$K = \frac{ЛД_{50смеси}}{Д_k} = \frac{430{,}0(300{,}0 \div 570{,}0)}{208{,}9} = 2{,}05(1{,}43 \div 2{,}72).$$

Рис 7.4. График летальности веществ А и В. Пояснения в тексте

Поскольку нижняя граница доверительного интервала коэффициента K больше единицы (1,43), можно сделать вывод о потенцировании токсического эффекта в смеси, при этом среднее значение K = 2,05 характеризует его степень (потенцирование в 2,05 раза).

7.2.3. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ПЛАНИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТА КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ КСЕНОБИОТИКОВ

При оценке опасности химических соединений, загрязняющих окружающую среду, одним из основных критериев, очевидно, является их комбинированное действие, которое может иметь место в реальных условиях при одновременном поступлении веществ в окружающую среду как в штатных, так и в аварийных и других экстремальных ситуациях. В связи с этим при разработке стратегии экологического мониторинга были предложены приемы постановки многофакторного эксперимента для осуществления прогноза состояния экосистем.

Вредные, нежелательные воздействия можно рассматривать как независимые переменные ($x_1, x_2, ..., x_n$). Тогда поведение этой системы, которая может рассматриваться как «черный ящик», будет определяться набором показателей, определяющих надежность ее функционирования, т. е. рядом зависимых переменных ($y_1, y_2, ..., y_n$), или параметром «выхода» (функция отклика).

Истинный вид функции ($y_1, y_2, ..., y_n$) = $f(x_1, x_2, ..., x_n)$ неизвестен, его надо найти.

При разложении функции $y = f(x_1, x_2, ..., x_n)$ в степенной ряд получаем некоторую аппроксимацию этой неизвестной зависимости в виде уравнения регрессии:

$$y = b_0 + b_i x_i + b_i x_i x + b_{ii} x_i + \dots,$$

где b_i – эмпирические оценки, значения которых определяют величину отклика при изменении соответствующих переменных. Эти оценки носят название коэффициентов регрессии.

Если бы в естественных условиях действие каждой переменной было достоверно независимо от действия остальных, то для описания связи «воздействие – отклик» вполне оказалось бы достаточным ограничить степень полинома линейными членами, т. е. $y = y = b_0 + b_i k_i$, и для этого случая оказалась бы пригодной постановка однофакторного эксперимента, методология которого предусматривала варьирование в эксперименте только одного переменного на фоне поддержания постоянства других условий опыта.

Однако при совместном действии ряда загрязнителей на природные системы весьма часто наблюдаются эффекты взаимного ослабления (явления так называемого антагонизма) или усиления (явления синергизма) при контроле выбранных отдельных показателей состояния экосистем (или отдельного объекта). Аддитивность воздействия является частным и обычно нечастым случаем отклика системы на комбинированное действие.

Подобная ситуация приводит к необходимости включения в конкретное описание функции $y = f(x_1, x_2, ..., x_n)$ членов уравнения, которые содержат произведение факторов, т. е. $b_i x_i x$. Их появление в уравнении регрессии свидетельствует, что зависимость выхода y от некоторого фактора x_i находится одновременно в определенной зависимости и от другого фактора – x_j.

Таким образом, взаимодействие факторов в этом случае означает только наличие статистически значимых отклонений от аддитивности при одновременном влиянии двух или нескольких факторов на систему.

Для получения оценок взаимодействия факторов необходимо переходить к многофакторному эксперименту, план которого предусматривает одновременное и независимое варьирование изучаемых переменных. Планы такого рода экспериментов хорошо известны, техника расчетов коэффициентов регрессии детально описана в ряде руководств, а интерпретация результатов не представляет затруднений.

В простейшем случае для двух переменных, оказывающих отрицательное воздействие на показатель состояния y_i:

1) аддитивность влияния может быть записана уравнением:

$$y_1 = b_0 - b_1x_1 - b_2x_2;$$

2) явление антагонизма, т. е. ослабление отрицательного воздействия одного из загрязнителей при наличии другого, – уравнением вида

$$y_2 = b_0 - b_1x_1 - b_2x_2 + b_{12}x_1x_2;$$

3) явление синергизма, или увеличения эффекта одного в присутствии другого, – уравнением вида

$$y_2 = b_0 - b_1x_1 - b_2x_2 - b_{12}x_1x_2.$$

7.2.3.1. Однократное комбинированное действие

Использование методов математического анализа при расчете дозозависимых эффектов комбинированного действия, как правило, достаточно сложный и громоздкий процесс. Применение унифицированных методов планирования эксперимента значительно упрощает математические расчеты.

Теория планирования экспериментов располагает различными базовыми планами для построения моделей, адекватно описывающих изучаемые процессы. Эти планы отвечают различным требованиям оптимальности и позволяют строить модели высокого порядка, в данной работе для постановки эксперимента предлагается использовать ортогональный план 2-го порядка, а в качестве унифицированного принять план вида 3^2 (табл. 7.8).

На основе результатов y девяти опытов определяем зависимость $y = f(x_1, x_2)$ в виде многочлена 2 порядка:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x^2{}_1 + b_{22}x^2{}_2 + b_{12}x_1x_2 .$$

Коэффициенты b_0, b_1, b_2, b_{11}, b_{22} *и* b_{12} квадратического полинома находим при помощи формулы:

$$b_i = \sum y_i a_i / c_i . \qquad (7.17)$$

Векторы a и коэффициенты c приведены в табл. 7.9.

Для определения адекватности полученной математической модели изучаемому процессу находим расчетные значения y, подставляя в уравнение (7.17) условия каждого опыта.

Аналитическое описание искомой зависимости признается адекватным, когда величины $\Delta_i = y_{pi} - y_i$ не превышают ошибки измерения изучаемого показателя.

Математическая модель интерпретируется следующим образом.

Коэффициент b_0 соответствует величине изучаемого показателя при среднем значении обоих факторов, т. е. при введении обоих веществ в средних изоэффективных дозах. Следовательно, по увеличению или уменьшению величины b_0, по сравнению с контролем, можно судить об общей направленности комбинированного действия (повышение или понижение активности фермента и т.д.), а также о степени чувствительности данного показателя к воздействию вещества.

Таблица 7.8

План эксперимента по изучению острого комбинированного воздействия двух факторов (x_1, x_2)

№ опыта	Факторы		Результат		Ошибка
	x_1	x_2	фактический y_i	расчетный y_{pi}	$\Delta_i = y_{pi} - y_i$
1	–1	–1			
2	1	–1			
3	–1	1			
4	1	1			
5	0	0			
6	0	1			
7	0	–1			
8	1	0			
9	–1	0			

Коэффициенты b_1 и b_{11} отражают линейный и квадратичный компоненты эффекта 1-го фактора, соответственно, b_2 и b_{22} – 2-го фактора.

Поскольку максимальные уровни обоих факторов заданы в кодированном обозначении, то следует помнить, что коэффициенты непосредственно характеризуют влияние фактора на изучаемый эффект не напрямую, а в интервале варьирования. Чем больше абсолютная величина коэффициента, тем большее влияние оказывает данный фактор независимо от уровня другого.

Таблица 7.9

Векторы для вычисления коэффициентов b_i зависимости $y = f(x_1, x_2)$

C_i	9	6	6	6	6	4
№ опыта a_i	a_0	a_1	a_2	a_{11}	a_{22}	a_{12}
1	–1	–1	–1	1	1	1
2	–1	1	–1	1	1	–1
3	–1	–1	1	1	1	–1
4	–1	1	1	1	1	1
5	5	0	0	–2	–2	0
6	2	0	1	–2	1	0
7	2	0	–1	–2	1	0
8	2	1	0	1	–2	0
9	2	–1	0	1	–2	0

Коэффициенты b_0 характеризуют изменение влияния одного фактора в зависимости от уровня другого, т.е. эффект взаимодействия факторов.

Знаки при коэффициентах указывают на направленность сдвига показателя при независимом действии факторов. Знак «+» при линейных коэффициентах обозначает усиление эффекта на верхнем уровне воздействия по сравнению с таковым при среднем уровне фактора и снижение на нижнем, знак «–» – противоположное действие.

Характеристика направленности эффекта взаимодействия более сложна. В случае двух факторов знак «+» при коэффициенте b_{12} означает увеличение

величины показателя «у» при одноименных знаках факторов, знак «–» свидетельствует об уменьшении эффекта при одноименных знаках факторов и о его увеличении при разноименных.

Таким образом, путем интерпретации уравнения регрессии – математической модели изучаемого процесса – может быть дана количественная оценка, в зависимости от которой комбинированный эффект подразделяется на аддитивный, менее аддитивного и более аддитивного (потенцирование).

В качестве уровней факторов следует использовать величины, выражаемые в долях от $ЛД_{50}$ ($ЕД_{50}$), так, чтобы их интервал варьирования был одинаков. Например, 0; 0,5 $ЛД_{50}$; 1,0 $ЛД_{50}$ – интервал варьирования 0,5 $ЛД_{50}$. При этом необходимо учитывать, что вещества с выраженной степенью наклона прямой доза – эффект в дозе 0,5 $ЛД_{50}$ могут не вызывать соответствующего эффекта (рис. 7.5). В таких случаях целесообразно рекомендовать принцип использования вероятностных величин в качестве уровней факторов и их интервал варьирования. Например, $ЛД_{50}$; $ЛД_{25}$ и $ЛД_{50}$ (соответственно $ЕД_0$, $ЕД_{25}$, $ЕД_{50}$) – интервал варьирования $ЛД_{25}$.

Величины $ЛД_0$, $ЛД_{25}$, $ЛД_{50}$ определяются графически методом пробит–анализа или аналитически с помощью вариационно-статистического метода[15], который одновременно позволяет устанавливать стандартную ошибку и доверительный интервал доз, вызывающих любую частоту эффекта, в том числе $ЛД_0$ и $ЛД_{100}$.

В качестве примера используем результаты двух различных экспериментов.

Пример 1

Регистрируемым показателем является гибель животных. Изучалось комбинированное действие веществ А и В при однократном введении в желудок белым крысам. С целью постановки опытов, согласно матрице ортогонального планирования эксперимента, дозы веществ кодировались как (–1), (0) и (+1).

Как видно из данных табл. 7.10, опыты проводились на смертельном уровне доз. План и результаты опытов приведены в табл. 7.11.

Каждый из 9-ти опытов проводился на 6 животных, учитываемый показатель у, – гибель животных в%.

Таблица 7.10

Уровни факторов и интервалы варьирования

Вещества	Символы факторов	Уровень факторов			Интервал варьирования
		–1	0	+1	
А	x_1	0	$1/2ЛД_{50}$	$ЛД_{50}$	$1/2ЛД_{50}$
В	x_2	0	$1/2ЛД_{50}$	$ЛД_{50}$	$1/2ЛД_{50}$

[15] Павлов С.Д. Доклад ВАСХНИЛ. 1981. № 5. С. 37–39.

Рис. 7.5. График летальности веществ А и В: а) $ЛД_{50}$ вещества А – 4 мг/кг; 0,5 $ЛД_{50}$ вещества А – 2 мг/кг (вызывает летальный исход). Для таких веществ уровни факторов выражаются величинами 0; 0,5 $ЛД_{50}$; $ЛД_{50}$; б) $ЛД_{50}$ вещества В (с выраженной степенью наклона прямой доза – эффект) – 4 мг/кг 0,5 $ЛД_{50}$ вещества В – 2 мг/кг (не вызывает летального исхода). Для таких веществ уровни факторов выражаются вероятностными величинами $ЛД_0$; $ЛД_{25}$; $ЛД_{50}$

На основе результатов эксперимента с помощью табл. 7.9 по формуле для нахождения коэффициентов квадратичного полинома (см. выше) рассчитываем коэффициенты уравнения регрессии:

$$b_0 =$$

$$= \frac{0\cdot(-1)+33{,}2\cdot(-1)+50{,}0\cdot(-1)+100\cdot(-1)+66{,}6\cdot 5+83{,}2\cdot 2+16{,}6\cdot 2+100\cdot 2+33{,}2\cdot 2}{9} =$$

$$= 68{,}4$$

$$b_{12} = \frac{0\cdot 1+33{,}2(-1)+50{,}0(-1)+100\cdot 1}{4} = 4{,}2.$$

Отсюда искомое уравнение примет вид:

$$y = 68,4 + 25,0x_i + 30,5x_2 - 2,7x_i^2 - 19,4x_2^2 + 4,2x_1x_2 .$$

Рассчитываем по данному уравнению процент гибели животных y_{pi}, подставляя в уравнение кодированные условия каждого опыта:

$$y = 68,4 + 25\cdot(-1) + 30,5\cdot(-1) - 2,7\cdot(-1)^2 -$$
$$-19,4\cdot(-1)^2 + 4,2\cdot(-1)\cdot(-1) = -5$$

и так далее $y_2, \ldots, y_n$.

Ошибка $\Delta_i = y_{pi} - y_i$ ни в одном случае не превысила 10%. Средняя ошибка определяется по формуле:

$$\Delta = \frac{\Sigma I\Delta_i I}{n}, \qquad (7.18)$$

где $I\Delta_i I$ – ошибка каждого опыта, взятая по модулю, т.е. без учета знака, n – число опытов.

В рассматриваемом случае Δ = 4,5%. Такая точность аппроксимации позволяет рассматривать полученное уравнение регрессии как математическую модель комбинированного действия веществ А и В на смертельном уровне доз на белых крысах.

Таблица 7.11

План и результаты изучения острого комбинированного воздействия веществ А и В

№ опыта	Факторы		Результат		Ошибка
	x_1	x_2	y_i	y_{pi}	$\Delta_i = y_{pi} - y_i$
1	–1	–1	0	–5	5,0
2	1	–1	33,2	36,6	–3,4
3	–1	1	50,0	47,6	2,4
4	1	1	100,0	106,0	–6,0
5	0	0	66,6	68,4	–1,8
6	0	1	83,2	79,5	3,7
7	0	–1	16,6	18,5	–1,9
8	1	0	100,0	90,7	9,3
9	–1	0	33,2	40,7	–7,5

$$\sum I\Delta_i I = 41,0, \quad \Delta_i = \frac{\sum I\Delta_i I}{n} = 4,5.$$

Интерпретация данной модели свидетельствует, что действие веществ является взаимозависимым ($b_{12} \neq 0$), однако взаимодействие выражено сравнительно слабо. Действие веществ однонаправленно (синергизм), при этом линейные эффекты несколько уменьшаются за счет нелинейных. Это особенно выражено для вещества В.

Изолированное введение вещества А при увеличении дозы от 1/2 $ЛД_{50}$ до 1,0 $ЛД_{50}$ вызывает увеличение гибели животных на 22,3% *($b_1 - b_{11}$),* вещества В – на 11,1%, при совместном действии – на 37,6%. Таким образом, можно заключить, что эффект комбинированного действия веществ А и В – взаимозависимый, синергический, несколько более аддитивного (тенденция к потенцированию).

Пример 2

Регистрируемым показателем является изменение состояния изучаемого объекта. Изучалось комбинированное действие тетраэтилолова (Et_4Sn) и триэтиларсина (Et_3As) на прорастание семян (энергия прорастания – $E_{пр}$, выраженная в относительных единицах). С целью постановки опыта, согласно матрице ортогонального планирования эксперимента, дозы веществ кодировались как (–1), (0) и (+1) (табл. 7.12).

Как видно из таблицы, в качестве уровней факторов предложены не рекомендованные доли от среднелетальной дозы $ЛД_{50}$, а концентрация вещества (в %), обладающая биологическим действием на изучаемый объект – семена гороха, а ряд концентраций выражен не в арифметической, а в геометрической прогрессии 10.

Результаты опыта занесены в рабочую табл. 7.13.

Таблица 7.12

Уровни факторов и шаг варьирования

Вещества	Символы факторов	Уровень факторов			Шаг варьирования
		–1	0	+1	
Et_4Sn	x_1	0	0,1%	1%	10
Et_3As	x_2	0	0,01%	0,1%	10

Коэффициент рассчитывается по формуле:

$$b_i = \sum y_i a_i / c_i , \qquad (7.19)$$

где y_i – фактический результат биологического отклика (табл. 7.13), а значение векторов a_i и коэффициентов получаем c_i из табл. 7.9

$$b_0 = \\ = \begin{pmatrix} 0,51\cdot(-1) + 0,68\cdot(-1) + 0,48\cdot(-1) + 0,62\cdot(-1) + 0,52\cdot(5) + 0,49\cdot(2) + \\ +K + 0,52 - (2) + 0,67 - (2) + 0,5 - (2) \end{pmatrix} : 9 = \\ = 0,52$$

$$b_1 = (0,51\cdot(-1) + 0,68\cdot(1) + 0,48\cdot(-1) + 0,62\cdot(1) + 0,52\cdot(0) + 0,49\cdot(0) + \\ +0,52\cdot(0) + 0,67\cdot(1) + 0,5\cdot(-1)) : 6 = 0,08$$

и т.д.

$$b_2 = -0,02; b_{11} = 0,067; b_{22} = -0,013 .$$

Подставляя полученные значения коэффициентов b_i, получаем искомое уравнение:

$$y_1 = 0,52 + 0,08x_1 - 0,02x_2 + 0,067x_1^2 - 0,013x_2^2 - 0,0075x_1x_2 .$$

Для определения достоверности полученной математической модели рассчитаем по полученному уравнению теоретическое (расчетное) значение биологического эффекта и ошибку между теоретическими и фактическими результатами.

Таблица 7.13

План и результаты острого комбинированного действия Et_4Sn и Et_3As на прорастание семян гороха

№ опыта	Факторы		Результат		Ошибка $\Delta_i = y_{pi} - y_i$
	x_1	x_2	y_i	y_{pi}	
1	–1	–1	0,51		
2	1	–1	0,68		
3	–1	1	0,48		
4	1	1	0,62		
5	0	0	0,52		
6	0	1	0,49		
7	0	–1	0,52		
8	1	0	0,67		
9	–1	0	0,50		

Подставим в уравнение вместо неизвестной x, величину фактора (в кодированном виде), соответствующую конкретному опыту:

$$y_1 = 0,52 + 0,08(-1) - 0,02(-1) + 0,067(-1)^2 -$$
$$-0,013(-1)^2 - 0,0075(-1)(-1) = 0,51;$$
$$y_2 = 0,52 + 0,08(1) - 0,02(-1) + 0,067(1)^2 - 0,013(-1)^2 -$$
$$-0,0075(1)(-1) = 0,68;$$
$$y_3 = 0,48;\ y_4 = 0,63;\ y_5 = 0,52;$$
$$y_6 = 0,49;\ y_7 = 0,53;\ y_8 = 0,67;\ y_9 = 0,51.$$

Полученные значения, как и разницу между теоретическим и фактическим значением ($\Delta_i = y_{pi} - y_i$), занесем в табл. 7.14.

Таблица 7.14

Фактические и расчетные результаты острого комбинированного действия Et_4Sn и Et_3As на прорастание семян гороха

№ опыта	Факторы		Результат		Ошибка
	x_1	x_2	фактический y_i	расчетный y_{pi}	$\Delta_i = y_{pi} - y_i$
1	–1	–1	0,51	0,51	0
2	1	–1	0,68	0,68	0
3	–1	1	0,48	0,48	0
4	1	1	0,62	0,63	–0,01
5	0	0	0,52	0,52	0
6	0	1	0,49	0,49	0
7	0	–1	0,52	0,53	–0,01
8	1	0	0,67	0,67	0
9	–1	0	0,50	0,51	–0,01

Средняя ошибка определяется по формуле:

$$\Delta = \frac{\Sigma I \Delta_i I}{n}, \qquad (7.20)$$

где Δ_i – ошибка каждого опыта, взятая по модулю, т.е. без учета знака, n – число опытов.

В рассматриваемом случае Δ = 0,003, что значительно меньше ошибки эксперимента (0,01). Такая точность аппроксимации позволяет рассматривать полученное уравнение как математическую модель комбинированного действия Et_4Sn и Et_3As на прорастание семян гороха.

Интерпретация данной модели свидетельствует, что:

1) коэффициент b_0 незначительно, но всё же выше энергии прорастания семян гороха в контрольном (1-м) опыте, что свидетельствует о незначительном стимулирующем действии изучаемых доз соединений в эксперименте;

2) коэффициенты b_1, b_{11} *и* b_2, b_{22} указывают, что линейные и нелинейные компоненты воздействия каждого из факторов примерно равны, между тем воздействие фактора x_1 (Et_4Sn) оказывает стимулирующее действие и при-

мерно в 4 раза выше действия фактора x_2 (Et_3As), угнетающе действующего на семена гороха;

3) коэффициент b_{12} незначителен, что свидетельствует о слабовыраженном взаимозависимом действии веществ.

7.2.3.2. Многократное комбинированное действие

Особенностью хронических опытов по изучению комбинированного действия токсических веществ является ограниченное число групп животных и, соответственно, испытываемых доз (концентраций). При исследовании многократного комбинированного воздействия двух веществ необходимо использовать, как минимум, четыре группы животных: 1 – контрольная, 2 – подвергающаяся воздействию вещества А, 3 – подвергающаяся воздействию вещества В, 4 – подвергающаяся комбинированному действию обоих веществ в тех же дозах, что и при изолированном воздействии. Основываясь на современной теории математического планирования эксперимента, указанные четыре опыта можно в совокупности рассматривать как матрицу полного факторного эксперимента вида 2 (табл. 7.15).

Таблица 7.15

Матрица планирования двухфакторного эксперимента

№ опыта	Факторы		Результат		Ошибка $\Delta_i = y_{pi} - y_i$
	x_1	x_2	*фактический* y_i	*расчетный* y_{pi}	
1	–1	–1			
2	1	–1			
3	–1	1			
4	1	1			
5[16]	0	0			

Минимальный уровень обоих факторов соответствует отсутствию ответной реакции для каждой группы эксперимента.

Результаты регрессионного анализа выражаются в виде уравнения

$$y = b_o + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2 ,$$

где y – величина изучаемого показателя; b_i – коэффициенты регрессии.

Соответствующие коэффициенты b_i вычисляются по следующим формулам:

$$b_1 = \frac{y_1 + y_2 + y_3 + y_4}{4}; \qquad (7.21)$$

$$b_2 = \frac{-y_1 + y_2 - y_3 + y_4}{4}; \qquad (7.22)$$

[16] Необходимость пятой опытной группы объясняется дальше по тексту.

$$b_3 = \frac{-y_1 - y_2 + y_3 + y_4}{4}; \qquad (7.23)$$

$$b_4 = \frac{y_1 - y_2 - y_3 + y_4}{4}, \qquad (7.24)$$

где y_i – результат определения показателя в 1-м опыте, y_2 – во 2-м опыте и т.д.

Для определения точности аппроксимации полученной математической модели расчетная ошибка (Δ_i) сравнивается с ошибкой определения показателя.

С целью характеристики адекватности математической модели и возможности прогноза на ее основе характера комбинированного действия при различных сочетаниях факторов ставится 5-й опыт – при уровнях обоих факторов, составляющих 1/2 от испытанных при изолированном воздействии. Полученная в этом опыте величина показателя сравнивается с величиной коэффициента b_0, отражающего расчетный эффект при средних значениях (в кодированном виде – 0) обоих факторов. Разница должна находиться в пределах ошибки определения показателя. Характер и степень выраженности эффекта комбинированного действия факторов оценивается по уравнению математической модели следующим образом: по увеличению или уменьшению величины b_o по сравнению с контролем (результатом 1-го опыта) можно судить об общей направленности совместного действия. Линейные коэффициенты b_1 и b_2 характеризуют влияние данного фактора (x_1 и x_2) на величину y при изменении уровня фактора на интервал варьирования. Коэффициент b_{12} отражает влияние одного фактора в зависимости от другого, т.е. эффект взаимодействия факторов. Знаки при коэффициентах указывают на направленность влияния.

Таким образом, на основе анализа уравнения можно дать оценку комбинированного эффекта: менее аддитивного, аддитивного или более аддитивного (потенцирование). Последний эффект регистрируется, когда все коэффициенты уравнения значимы и однонаправленны. В случае потенцирования эффекта вычисляется соответствующий коэффициент:

$$K_p = \frac{b_1 + b_2 + b_{12}}{b_1 + b_2}. \qquad (7.25)$$

Пример

Изучалось комбинированное действие диметилтеллура (Me_2Te) и диметилселена (Me_2Se) на дафний *(Daphnia magna Str.).* Было проведено 4 основных и один дополнительный опыт, матрица планирования и характеристика проведенных опытов приведены в табл. 7.16.

В каждом опыте было использовано 30 рачков *(Daphnia magna Str.),* учитываемый показатель y – процент гибели, ошибка эксперимента принимается за 5% изучаемого показателя.

Полученные в ходе эксперимента результаты опытов представлены в рабочей табл. 7.17.

Таблица 7.16

Матрица планирования и уровень используемых факторов в эксперименте по оценке комбинированного действия Me_2Te и Me_2Se на *Daphnia magna* Str.

№ опыта	Факторы		Характер опыта
	x_1	x_2	
1	–1	–1	Контроль
2	1	–1	Воздействие Me_2Se (300 мг/л)
3	–1	1	Воздействие Me_2Te (6 мг/л)
4	1	1	Действие Me_2Se(300 мг/л) Me_2Te (6 мг/л)
5	0	0	Действие Me_2Se (150 мг/л) Me_2Te (3 мг/л)

Уравнение математической модели имеет вид:

$$y = b_o + b_1 x_l + b_2 x_2 + b_{12} x_1 x_2 ,$$

где коэффициенты b_i вычисляем по предложенным ранее формулам, подставляя вместо y_i фактические результаты эксперимента:

$$b_0 = \frac{10 + 100 + 80 + 90}{4} = 70;$$

$$b_1 = \frac{-10 + 100 - 80 + 90}{4} = 25;$$

$$b_2 = \frac{-10 - 100 + 80 + 90}{4} = 15;$$

$$b_{12} = \frac{10 - 100 - 80 + 90}{4} = -20.$$

Таблица 7.17

Результаты опытов комбинированного действия Me_2Te и Me_2Se на *Daphnia magna* Str.

№ опыта	Факторы		Результат		Ошибка $\Delta_i = y_{pi} - y_i$
	x_1	x_2	*фактический* y_i	*расчетный* y_{pi}	
1	–1	–1	10		
2	1	–1	100		
3	–1	1	80		
4	1	1	90		
5	0	0	70		

Подставим полученные коэффициенты b_i в уравнение математической модели

$$y = 70 + 25x_1 + 15x_2 - 20x_1x_2 .$$

Проанализируем полученное уравнение на адекватность его с экспериментальными данными:

1. Значения b_0 (70%) и y_5 (70%) тождественны, что указывает на адекватность расчетных и экспериментальных данных при средних уровнях воздействия изучаемых веществ.

2. По разнице между $y_{фактич.}$ и $y_{расчет.}$ вычислим среднюю расчетную ошибку, для этого в полученное уравнение математической модели подставляем имеющиеся кодированные значения факторов для каждого опыта:

$$y_1 = 70 + 25(-1) + 15(-1) - 20(-1)(-1) = 70 - 25 - 15 - 20 = 10;$$

$$y_2 = 70 + 25(+1) + 15(-1) - 20(+1)(-1) = 70 + 25 - 15 + 20 = 100;$$

$$y_3 = 70 + 25(-1) + 15(+1) - 20(-1)(+1) = 70 - 25 + 15 + 20 = 80;$$

$$y_4 = 70 + 25(+1) + 15(+1) - 20(+1)(+1) = 70 + 25 + 15 - 20 = 90;$$

полученные данные занесем в табл. 7.18.

Таблица 7.18

Анализ адекватности математической модели и экспериментальных данных в опытах по комбинированному действию Me_2Te и Me_2Se на *Daphnia magna* Str.

№ опыта	Факторы		Результат		Ошибка $\Delta_i = y_{pi} - y_i$
	x_1	x_2	*фактический* y_i	*расчетный* y_{pi}	
1	–1	–1	10	10	0
2	1	–1	100	100	0
3	–1	1	80	80	0
4	1	1	90	90	0
5	0	0	70	70	

$$\Sigma I \Delta_i I = 0.0, \quad \Delta_i = \frac{\Sigma I \Delta_i I}{n} = 0.0$$

Полученные результаты $\Delta_i = 0$ указывают на полную адекватность математической модели и экспериментальных данных.

Интерпретируем полученные результаты.

1. Значение b_0 (70%) на 60% превышает y_1 (10%), соответствующее контрольному опыту, что свидетельствует о высоком угнетающем совместном действии изучаемых концентраций Me_2Te и Me_2Se на *Daphnia magna Str.*

2. По значениям коэффициентов b_1 (25%) и b_2 (15%) в (22) можно сделать вывод, что изучаемые концентрации (300 мг/л) Me_2Se и (6 мг/л) Me_2Te оказывают однонаправленное угнетающее действие на *Daphnia magna Str.,* причем вклад в токсическое действие Me_2Se (300 мг/л) несколько выше, чем Me_2Te (6 мг/л).

3. Отрицательное значение коэффициента b_{12} (–20) указывает на антагонистическое (менее аддитивного) взаимозависимое действие обоих факторов.

Пользуясь тем, что коэффициенты b_1 и b_2 однонаправленны, рассчитаем коэффициент потенцирования (K_p)

$$K_p = \frac{25 + 15 - 20}{25 + 15} = \frac{20}{40} = 0{,}5.$$

Значение K_p (0,5) < 1 подтверждает наличие менее аддитивного эффекта в совместном действии обоих факторов и снижение уровня токсичности комбинированного действия обоих факторов в 2 раза по сравнению с токсическим действием обоих компонентов в изолированном действии.

7.3. Приложение

ПЕРЕВОД ПРОЦЕНТОВ В ПРОБИТЫ

	0,00	**0,01**	**0,02**	**0,03**	**0,04**	**0,05**	**0,06**	**0,07**	**0,08**	**0,09**
0,1	1,91	1,94	1,96	1,99	2,01	2,03	2,05	2,07	2,09	2,11
0,2	2,12	2,14	2,15	2,17	2,18	2,19	2,21	2,22	2,23	2,24
0,3	2,25	2,26	2,27	2,28	2,29	2,30	2,31	2,32	2,33	2,34
0,4	2,35	2,36	2,36	2,37	2,38	2,39	2,40	2,40	2,41	2,42
0,5	2,42	2,43	2,44	2,44	2,45	2,46	2,46	2,47	2,48	2,48
0,6	2,49	2,49	2,50	2,51	2,51	2,52	2,52	2,53	2,53	2,54
0,7	–2,54	2,55	2,55	2,56	2,56	2,57	2,57	2,58	2,58	2,59
0,8	2,59	2,60	2,60	2,60	2,61	2,61	2,62	2,62	2,63	2,63
0,9	2,63	2,64	2,64	2,65	2,65	2,65	2,66	2,66	2,67	2,67

	0,0	**0,1**	**0,2**	**0,3**	**0,4**	**0,5**	**0,6**	**0,7**	**0,8**	**0,9**
1	2,67	2,71	2,74	2,77	2,80	2,83	2,86	2,88	2,90	2,93
2	2,95	2,97	2,99	3,00	3,02	3,04	3,06	3,07	3,09	3,10
3	3,12	3,13	3,15	3,16	3,18	3,19	3,20	3,21	3,23	3,24
4	3,25	3,26	3,27	3,28	3,29	3,30	3,32	3,33	3,34	3,35
5	3,36	3,36	3,37	3,38	3,39	3,40	3,41	3,42	3,43	3,44
6	3,45	3,45	3,46	3,47	3,48	3,49	3,50	3,50	3,51	3,52
7	3,52	3,53	3,54	3,55	3,55	3,56	3,57	3,57	3,58	3,59
8	3,59	3,60	3,61	3,61	3,62	3,63	3,63	3,64	3,65	3,65
9	3,66	3,67	3,67	3,68	3,68	3,69	3,70	3,70	3,71	3,71

	0,0	**0,2**	**0,4**	**0,6**	**0,8**
10	3,72	3,73	3,74	3,75	3,76
11	3,77	3,78	3,79	3,80	3,82
12	3,83	3,84	3,84	3,85	3,86
13	3,87	3,88	3,89	3,90	3,91
14	3,92	3,93	3,94	3,95	3,96
15	3,96	3,97	3,98	3,99	4,00
16	4,00	4,01	4,02	4,03	4,04
17	4,05	4,05	4,06	4,07	4,08
18	4,08	4,09	4,10	4,11	4,11
19	4,12	4,13	4,14	4,14	4,15
20	4,16	4,17	4,17	4,18	4,19
21	4,19	4,20	4,21	4,21	4,22
22	4,23	4,23	4,24	4,25	4,25
23	4,26	4,27	4,27	4,28	4,29
24	4,29	4,30	4,31	4,31	4,32
25	4,33	4,33	4,34	4,34	4,35
26	4,36	4,36	4,37	4,38	4,38
27	4,39	4,39	4,40	4,41	4,41
28	4,42	4,42	4,43	4,43	4,44
29	4,45	4,45	4,46	4,46	4,47
30	4,48	4,48	4,49	4,49	4,50
31	4,50	4,51	4,52	4,52	4,53

32	4,53	4,54	4,54	4,55	4,55
33	4,56	4,57	4,57	4,58	4,58
34	4,59	4,59	4,60	4,60	4,61
35	4,61	4,62	4,63	4,63	4,64
36	4,64	4,65	4,65	4,66	4,66
37	4,67	4,67	4,68	4,68	4,69
38	4,69	4,70	4,71	4,71	4,72
39	4,72	4,73	4,73	4,74	4,74
40	4,75	4,75	4,76	4,76	4,77
41	4,77	4,78	4,78	4,79	4,79
42	4,80	4,80	4,81	4,81	4,82
43	4,82	4,83	4,83	4,84	4,84
44	4,85	4,85	4,86	4,86	4,87
45	4,87	4,88	4,88	4,89	4,89
46	4,90	4,90	4,91	4,91	4,92
47	4,92	4,93	4,93	4,94	4,94
48	4,95	4,95	4,96	4,96	4,97
49	4,97	4,98	4,99	4,99	5,00
50	5,00	5,01	5,01	5,02	5,02
51	5,03	5,03	5,04	5,04	5,05
52	5,05	5,06	5,06	5,07	5,07
53	5,08,	5,08	5,09	5,09	5,10
54	5,10	5,11	5,11	5,12	5,12
55	5,13	5,13	5,14	5,14	5,15
56	5,15	5,16	5,16	5,17	5,17
57	5,18	5,18	5,19	5,19	5,20
58	5,20	5,21	5,21	5,22	5,22
59	5,23	5,23	5,24	5,24	5,25
60	5,25	5,26	5,26	5,27	5,27
61	5,28	5,28	5,29	5,30	5,30
62	5,31	5,31	5,32	5,32	5,33
63	5,33	5,34	5,34	5,35	5,35
64	5,36	5,36	5,37	5,37	5,38
65	5,39	5,39	5,40	5,40	5,41
66	5,41	5,42	5,42	5,43	5,43
67	5,44	5,45	5,45	5,46	5,46
68	5,47	5,47	5,48	5,48	5,49
69	5,50	5,50	5,51	5,51	5,52
70	5,52	5,53	5,54	5,54	5,55
71	5,55	5,56	5,56	5,57	5,58
72	5,58	5,59	5,59	5,60	5,61
73	5,61	5,62	5,63	5,63	5,64
74	5,64	5,65	5,66	5,66	5,67
75	5,67	5,68	5,69	5,69	5,70
76	5,71	5,71	5,72	5,73	5,73
77	5,74	5,75	5,75	5,76	5,77
78	5,77	5,78	5,79	5,79	5,80
79	5,81	5,81	5,82	5,83	5,83
80	5,84	5,85	5,86	5,86	5,87
81	5,88	5,89	5,89	5,90	5,91
82	5,92	5,92	5,93	5,94	5,95
83	5,95	5,96	5,97	5,98	5,99

84	5,99	6,00	6,01	6,02	6,03
85	6,04	6,05	6,05	6,06	6,07
86	6,08	6,09	6,10	6,11	6,12
87	6,13	6,14	6,15	6,16	6,17
88	6,18	6,19	6,20	6,21	6,22
89	6,23	6,24	6,25	6,26	6,27

	0,0	**0,1**	**0,2**	**0,3**	**0,4**	**0,5**	**0,6**	**0,7**	**0,8**	**0,9**
90	6,28	6,29	6,29	6,30	6,30	6,31	6,32	6,32	6,33	6,33
91	6,34	6,35	6,35	6,36	6,37	6,37	6,38	6,39	6,39	6,40
92	6,41	6,41	6,42	6,43	6,43	6,44	6,45	6,45	6,46	6,47
93	6,48	6,48	6,49	6,50	6,51	6,51	6,52	6,53	6,54	6,55
94	6,55	6,56	6,57	6,58	6,59	6,60	6,61	6,62	6,63	6,64
95	6,64	6,65	6,66	6,67	6,68	6,70	6,71	6,72	6,73	6,74
96	6,75	6,76	6,77	6,79	6,80	6,81	6,83	6,84	6,85	6,87
97	6,88	6,90	6,91	6,93	6,94	6,96	6,98	7,00	7,01	7,03
98	7,05	7,07	7,10	7,12	7,14	7,17	7,20	7,23	7,26	7,29
99,0	7,33	7,33	7,33	7,34	7,34	7,35	7,35	7,35	7,36	7,36
99,1	7,37	7,37	7,37	7,38	7,38	7,39	7,39	7,40	7,40	7,40
99,2	7,41	7,41	7,42	7,42	7,43	7,43	7,44	7,44	7,45	7,45
99,3	7,46	7,46	7,47	7,47	7,48	7,48	7,49	7,49	7,50	7,51
99,4	7,51	7,52	7,52	7,53	7,54	7,54	7,55	7,56	7,56	7,57
99,5	7,58	7,58	7,59	7,60	7,60	7,61	7,62	7,63	7,64	7,64
99,6	7,65	7,66	7,67	7,68	7,69	7,70	7,71	7,72	7,73	7,74
99,7	7,75	7,76	7,77	7,78	7,79	7,81	7,82	7,83	7,85	7,86
99,8	7,88	7,89	7,91	7,93	7,95	7,97	7,99	8,01	8,04	8,06
99,9	9,09	8,12	8,16	8,19	8,24	8,29	8,35	8,43	8,54	8,42

Глава 8

МЕТОДЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ЭКОТОКСИКАНТОВ

В конце XX века методы биологического тестирования стали широко использоваться в практике государственного экологического контроля большинства развитых стран мира. В Российской Федерации методы биологического тестирования используются при обосновании ПДК загрязняющих веществ для рыбохозяйственных водоёмов. С 1995 по 2000 годы в Российской Федерации действовал эколого–экономический эксперимент по внедрению методов биотестирования при оценке качества возвратных вод и взыманию платы с учётом их токсичности[17]. С 2001 года в соответствии с Приказом МПР России от 15 июня 2001 года № 511 и «Критериями отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды» методы биологического тестирования стали использоваться как инструмент анализа при оценке класса опасности отходов.

8.1. ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ

Биотестирование предполагает использование в контролируемых (лабораторных) условиях биологических тест–объектов для выявления и оценки действия факторов окружающей среды (в том числе и токсических) на организм, его отдельную функцию или систему организмов. У западноевропейских и американских токсикологов существуют термины «bioassay» и «biotest», которые означают практически одно и то же, а именно: определение действия веществ на живые организмы в стандартных условиях. По существу такое же, определение дано в докладе Временной научно-технической комиссии «О современном состоянии и перспективах развития научно–исследовательских работ по биотестированию природных и сточных вод»: «Под "биотестом" понимается оценка (испытание) в строго определенных условиях действия вещества или комплекса веществ на подопытные организмы путем регистрации изменений того или иного биологического (или физиолого-биохимического) показателя исследуемого обьекта по сравнению с контролем». Впервые информация по использованию методов биологического тестирования при исследовании качества воды, была опубликована в Англии в 1913 г. Мак-Гоуэном, Фри и Кершау в восьмом докладе «Королевской ко-

[17] Приказ Минприроды от 27.12.95 № 533 «О проведении эксперимента по внедрению методов биотестирования при оценке качества возвратных вод и взиманию платы с учётом их токсичности»; Приказ Госкомитета РФ по охране окружающей среды от 15.04.98 № 216 «О продолжении экономического эксперимента по взиманию платы за сбросы токсичных загрязняющих веществ в окружающую природную среду»).

миссии по ликвидации загрязнений». Первым методом анализа, используемым в процедуре биотестирования, был метод биологического потребления кислорода (БПК). К числу первых и наиболее широко распространённых методов биологического анализа относятся и органолептические процедуры по определению привкусов и запахов воды и образцов мяса рыб и других промысловых гидробионтов. В эту же группу анализов следует отнести разработанный в 1975 г. AZ–тест, а также предложенный в 1934 г. метод, предусматривающий использование при изучении загрязнений водоёмов ветвистоусых рачков – дафний.

Цель биотестирования – выявление на гидробионтах степени и характера токсичности воды (водных вытяжек), загрязненной биологически опасными веществами, и оценка возможной опасности этой воды для водных и других организмов. Главные достоинства биотестирования – простота и доступность приемов их постановки, высокая чувствительность тест-организмов к минимальным концентрациям токсических агентов, быстрота, отсутствие надобности в дорогостоящих реактивах и оборудовании.

В рассматриваемом плане биотестирование как метод биодиагностики наиболее близок к задачам количественного анализа объектов окружающей среды. Несмотря на то что биотестирование применяется не один десяток лет, приходится констатировать отсутствие устоявшейся терминологической базы, что зачастую приводит к разночтениям, определяемым принадлежностью исследователей к той или иной научной школе, взглядами, вкусами, позицией или отсутствием таковой. Достаточно приемлемой (с некоторыми изменениями и дополнениями) представляется система дефиниций биотестирования, основанная на работах ряда авторов. Базовым является понятие *тест-объекта*, под которым понимают чувствительный биологический элемент, способный реагировать на внешние воздействия (изменение параметров среды обитания). В данном контексте тест-объекты могут быть представлены ферментными системами, рецепторным аппаратом, изолированными органеллами, клетками, тканями и отдельными органами многоклеточного организма, целостными организмами (одно- и многоклеточными, одного или нескольких биологических видов – биоценозы). В качестве уточняющей дефиниции вводится понятие *тест-организма*, под которым понимается таксономическая характеристика тест-объекта и его систематическое положение. Тест-объекты распределены в некоторой среде и заключены в определенном объеме.

Более крупной иерархической единицей по отношению к тест-объекту является *тест-система* – пространственно ограниченная совокупность чувствительных биологических элементов, т.е. тест-объектов и среды их обитания. Сложность тест-системы определяется числом входящих в нее элементов (тест-объектов) и характером связей, устанавливаемых между ними и средой. По уровню организации тест-объектов тест-системы могут быть разделены на молекулярные, субклеточные, клеточные, органотканевые, организменные, популяционно-видовые, биоценотические. Последние, в зависимости от масштаба и конструктивных особенностей экспериментальной аппаратуры, делятся на микрокосмы, мезокосмы и макрокосмы. Гомогенность или гетерогенность тест-системы зависит от качественного состава тест-объектов и характера их распределения по объему экспериментальной среды.

В процессе биотестирования на тест-систему могут оказывать влияние, как минимум, три группы факторов. Во-первых, это факторы исследуемого объекта окружающей среды (природные и сточные воды, почва, атмосферные осадки и т.д.) в нативной или активированной в процессе пробоподготовке форме, т.е. *действующей форме*, обеспечивающей целевое воздействие на тест-систему. Во-вторых, экспериментальные факторы, с помощью которых тест-систему целенаправленно выводят за пределы физиологического оптимума, в основном, с целью повышения чувствительности, но, как правило, за счет сужения динамического диапазона. Следует иметь в виду, что в оптимальных условиях гомеостатических буферных механизмов может оказаться достаточно для компенсации потенциального снижения приспособленности, но когда условия близки к граничным, все физиологические механизмы работают на пределе своих возможностей и любая дополнительная нагрузка на них будет вести к снижению приспособленности. Отсюда понятно, что дополнительные функциональные нагрузки на тест-объект, выводящие его из зоны оптимальности, делают невозможным корректную экстраполяцию результатов биотестирования на природные объекты. Однако подобный прием повышения чувствительности определения того или иного компонента находит применение в химико-биологическом методе микроанализа. Наконец, третья группа факторов представлена совокупностью неконтролируемых воздействий, определяющих случайную составляющую погрешности процедуры измерения.

В итоге тест-объекты и тест-система, в целом, претерпевают качественные и количественные изменения, проявляющиеся соответствующими реакциями тест-системы на различных уровнях ее организации и функционирования. Весь спектр реакций, формирующихся в тест-системе, в ответ на внешнее, в том числе и химическое, воздействие можно назвать *претендент-реакциями*. Последние различаются по чувствительности, скорости появления ответной реакции, способам трансформации их в аналитический сигнал, особенностями регистрации результатов анализа и, следовательно, воспроизводимостью. В зависимости от целей и задач биотестирования одну или несколько из претендент-реакций выбирают в качестве *тест-реакции*, под которой понимают одну из закономерно возникающих ответных реакций тест-системы на воздействие внешних факторов, выбранную для анализа состояния этой тест–системы. Степень проявления тест-реакции характеризуют свойства исследуемого образца (пробы) объекта окружающей среды. Для оценки степени проявления тест-реакции вводят *тест-критерий*, т.е. показатель, на основании которого проводят оценку изменения состояния тест-системы под влиянием комплекса внешних (химических) факторов. Предполагается, что одна тест–реакция может быть охарактеризована набором тест-критериев.

Таким образом, характеристика и качество выполнения биологического тестирования напрямую зависят от выбора трёх показателей: 1) тест-

организмов; 2) условий проведения испытаний и 3) выбором тест-критерия и тест-реакции организмов.

В мировой практике для исследовательских целей используется более сотни различных методов биотестирования. Каждый из них может иметь специфические преимущества, однако ни один не может быть универсальным объектом, чувствительным ко всем веществам в равной степени.

Термин «избирательная токсичность» давно известен в классической токсикологии и означает поражение под влиянием токсического агента одних типов живого вещества без того, чтобы были затронуты другие, даже находящиеся с первыми в непосредственном контакте.

Проявление избирательного действия токсического агента может быть реализовано преимущественно тремя способами: 1) избирательное действие токсиканта обусловливается накоплением агента, что в ряде случаев связано только с морфологическими особенностями; 2) избирательное действие обуславливается цитологическими различиями организмов, наиболее наглядный пример – наличие клеточной стенки у растительных организмов и ее отсутствие у животных; 3) избирательное действие токсиканта обусловленное биохимическими различиями организмов – наиболее значительные биохимические различия между видами наблюдаются в биосинтезе ферментов и других более низкомолекулярных соединений, участвующих в процессе роста и деления.

Функциональное состояние тест-объектов под влиянием изучаемого фактора может оцениваться по параметрам, относящимся к разным уровням интегральности. При этом для каждого уровня могут быть выделены частные и интегральные тест-реакции. Для целостного организма к интегральным могут быть отнесены показатели плодовитости, массы, роста, выживаемости и т.д., а физиологические, биохимические, гистологические и прочие параметры относятся к частным. Для популяции интегральными характеристиками являются показатели численности, массы, возрастной и половой структуры и др. На уровне сообщества интегральные характеристики описывают видовой состав и его разнообразие, активность продукции и деструкции органического вещества и пр. В этом случае выживаемость организма – биотеста становится частным параметром. Попытка судить о состоянии интегральных параметров по динамике частных всегда подвержена риску существенной количественной ошибки. Однако такой риск может быть снижен одновременным применением комплекса методов биотестирования («батарея» тестов).

Основной принцип практического лабораторного биотестирования природных и сточных вод, реализуемый в развитых странах, – применение одновременно 3–4 методов с тест–организмами, представляющими разные трофические группы: бактерии (сапрофиты и нитрофикаторы), осуществляющие процессы самоочищения; водоросли и высшие растения – первичные продуценты, дающие начало большинству пищевых цепей в водоеме; дафнии, один из основных фильтраторов и седиментаторов в пресных водоемах. Общие требования к тест-объектам – относительная быстрота проведения биотеста и получение достаточно точных и воспроизводимых результатов. При биотестировании в лабораторных условиях тест-объекты должны легко культивироваться, быть генетически однородными по отношению к изучаемому фак-

тору воздействия, иметь невысокую способность к адаптации к неблагоприятным фактором, при этом необходимо использовать стандартизированные лабораторные методики, питательные среды, учитывать возраст и жизненный цикл развития тест-объектов. В соответствии с требованиями нормативных документов, биотестирование проводится на базе аттестованных лабораторий, обладающих необходимым набором поверенных приборов, реактивов и квалифицированным персоналом.

В процедуре биологического тестирования различают:

1) Острые биотесты (acutetests), выполняемые на различных тест-объектах по показателям выживаемости, продолжительностью от нескольких минут до 24–96 ч.

2) Краткострочные хронические тесты (short-termchronictests) с длительностью 7 сут., которые заканчиваются, как правило, после получения первого поколения тест-объектов.

3) Хронические тесты (chronictests), в которых измеряются характеристики тест-объектов, охватывающие несколько поколений. Хроническая токсичность среды проявляется через некоторое время в виде нарушений жизненных функций организмов, плодовитости, продуктивности, хода развития и возникновения патологических состояний (токсикозов), уродств (мутаций) в потомстве, сокращения продолжительности жизни.

Наиболее распространенными биологическими тест-объектами являются:

1. Микроорганизмы (энтеробактерии, сальмонеллы, псевдомонады, дрожжи и др).
2. Водоросли.
3. Простейшие и низшие животные (планктонные рачки).
4. Клеточные культуры и ранние зародыши экспериментальных животных при культивировании *in vitro*.
5. Растения.
6. Насекомые и другие группы беспозвоночных, включая кольчатых червей.
7. Позвоночные животные (рыбы и др.).
8. Гнобиотические системы и микрокосмы.

Микроорганизмы широко используются в различных методах тестирования. Так, использование и исследование микрофлоры, сопутствующей загрязнению природных сред определёнными веществами, позволяет повысить чувствительность традиционных методов. Среди биоты микроорганизмы во многих случаях являются оптимальным индикатором, учитывая их повсеместное распространение, высокую численность, большой вклад в процессы обмена веществ, энергии биоценозов, а также быструю смену поколений. Общепринято, например, в качестве санитарно-показательного организма использовать кишечную палочку, энтерококки, энтеровирусы, бактериофаги. В целях оценки влияния загрязнений на окружающую среду количественно учитывают и анализируют природную микробную систему, распределение микроорганизмов по таксономическим и физиологическим группам (численность бактерий и грибов, аэробных и анаэробных, споровых и неспоровых форм, азотфиксаторов, серобактерий, растительных симбионтов и др.), их устойчивость к загрязнениям (устойчивость к загрязнению микроорганизмов, выделенных из

среды с данным загрязнением, выше, чем из незагрязненных), ростовые характеристики, дыхательную активность, скорость выделения CO_2, подвижность, дегидрогеназную, нитрифицирующую, фосфатную, протеолитическую активности, восстановление оксидов Fe(III) и т.п.

На основе изменения ферментативной активности *Echerichia coli* в ответ на действие токсикантов разработана система тестов «токси-хромотест». Разработаны чувствительные тест-системы, позволяющие судить о содержании загрязнений в анализируемой пробе по биолюминесцентной реакции с использованием светящихся бактерий *Photobacterium phosphoreum*, *Vibrio fischeri*; по ингибированию роста (с использованием бактерий *Bacillus subtilis, Pseudomonas putida* и др.); дегидрогеназной активности (бактерии A*zotobacter agile*, *Pseudomonas fluorescens*, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* и др.). Цианобактерии *Anacystis nidulans* (*Synechococcus elongatus*) используются как тест-объекты при контроле содержания тяжёлых металлов. Наиболее чувствительные тест-параметры для цианобактерий – содержание хлорофилла и фотосинтетическая активность.

Данные, полученные при испытании токсичности веществ на водорослях, дают информацию о концентрациях токсикантов, оказывающих стимулирующее или тормозящее действие на водные системы. Водоросли технически довольно легко выращивать в больших количествах в регулируемых условиях в аквариумах. В лабораторных условиях наиболее часто в качестве тест–организма используют микроводоросли *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus quadricauda, Scenedesmus subspicatus, Selenastrum capricornutum* (биотестирование воды пресных водоёмов, тест на острую и хроническую токсичность по ингибированию прироста численности и изменению фотосинтетической активности), *Pseudokirchneriella subcapitata* (тест на хроническую токсичность по ингибированию роста водоросли), *Dunaliella maritime* (галотолерантная микроводоросль, биотестирование морских вод по соотношению подвижных и неподвижных клеток). При лабораторном биотестировании с использованием микроводорослей определяют темновую фазу фотосинтеза и фотосинтетическую активность. Разработана система тестов, фиксирующих изменение скорости движения протоплазмы, которая у многих клеток способна совершать круговые движения (циклоз). Реакция замедления или остановки протоплазмы лучше всего заметна на харовых водорослях (*Charophyta*), имеющих удлинённые клетки.

Широкое распространение получили методы биотестирования, основанные на изучении роста особей простейших (инфузории) и низших животных (рачки дафнии и др.). Эти тест-объекты, характеризующиеся относительно коротким жизненным циклом развития, хорошей приживаемостью в лабораторных условиях, позволяют получать экспресс-информацию, отражающую интегральное качество окружающей среды. Наиболее известные примеры тест-объектов – инфузории *Tetrahymena pyriformis*, *Stylonichia mytilus, Paramecium caudatum*, рачки *Daphnia magna*, *Thamnocephalus platyurus*, *Ceriodaphnia dubia*, *C. affinis*, *Acartiatonsa*, коловратки *Brachionus plicatilis*.

Простейшие и дафнии часто используются для определения токсичности проб воды, её санитарно-гигиенического контроля, оценки качества очистки воды в очистных сооружениях. В лабораторных тестах с простейшими и планктонными рачками анализируют такие показатели, как изменение выживаемости и плодовитости тест-организмов, подвижность особей, нарушение фототаксиса. При кратковременном биотестировании (менее 96 ч) определяют острое токсическое действие, а при длительном (7–20 и более суток) – хроническое токсическое действие на тест-организмах.

Индикатором для сельскохозяйственных угодий могут быть дождевые черви *Eisenia foetida* и *Lumbricus terrestris.* Биотестирование проводят для определения интегральной токсичности почвы с целью проверки соответствия качества почвы нормативным требованиям. В лабораторном экспресс-тесте отслеживают реакцию избегания червями загрязнённой почвы. Время теста – 2 сут., в отличие от стандартных тестов на репродуктивность (56 сут.) и острого теста на сублетальность.

Рыбы могут использоваться для определения острой и подострой токсичности. В водных экосистемах по чувствительности к облучению на первом месте стоят рыбы, затем ракообразные и моллюски, за ними водоросли и бактерии. На химические вещества рыбы реагируют слабо по сравнению с планктоном и многими ракообразными, однако токсические воздействия на рыб оказываются более многообразными. Ключевыми данными для оценки биологической активности в сублетальных областях являются изменения внешних и внутренних процессов жизнедеятельности рыб (изменения в её органах и функциональные нарушения). Для испытаний выбирают виды рыб, исходя из критерия максимальной и минимальной чувствительности вида; в качестве модельных видов часто используют карпа (минимально чувствительный) и форель (максимально чувствительный), в лабораторных тест-системах – аквариумных живородящих рыбок гуппи (*Poecillia reticulate Peters*) или данио (*Brachydanio rerio*).

Широкое применение в большинстве европейских стран находят методы биотестирования качества питьевой воды с использованием кардиоритмов моллюсков. Так, например, в Мосводоконале система контроля природной воды методом оптической кардиографии разработана и внедрена в эксплуатацию на Рублёвской станции водоподготовки. Для реализации процесса биотестирования в режиме (on-line) методом оптической кардиографии разработана 12-канальная система, представляющая собой новое техническое решение на базе мощного процессора с програмным обеспечением. Организована система из шести аквариумов с автоматически регулируемыми потоками воды, в каждый из которых помещены по два моллюска с прикреплёнными датчиками (рис. 8.1). По данным регистрации кардиоритмов компьютерная программа строит гистограммы кардиоритмов, отображающие их медианную частоту и дисперсию. Сопоставление накапливаемой гистограммы и предшествующей позволяет судить об изменениях частоты и ритмичности кардиоритмов. Полученные гистограммы наиболее информативно отображают статистику кардиоритма и считаются основной характеристикой для принятия решений о нормальном или аномальном поведении моллюсков.

Рис. 8.1. 12-канальная система опторегистрации кардиоритмов моллюсков на Рублёвской станции водоподготовки Мосводоканала

Интересными являются методы биологического тестирования, разработанные на стыке биологии и медицины

В настоящее время в медицинской практике используются кристаллоскопические методы исследования, имеющие своей целью расшифровку метаболической информации, сокрытой в качественно-количественном составе и физико-химических свойствах биологических сред. Одним из наиболее простых в практическом плане и с точки зрения интерпретации результатов является метод клиновидной дегидратации. При этом он достаточно чувствителен и информативен. Метод заключается в дегидратации (высыхании) капли исследуемого биосубстрата определённого объёма на твёрдой несмачиваемой подложке (стекло, пластмасса и т.д.). При этом происходит перераспределение компонентов биожидкости и образование макроскопических структур, доступных для анализа и интерпретации. На подложке образуется сухая плёнка, называемая рядом авторов фация (характеризующаяся специфичной для данной жидкости и физиологического состояния организма структурой. При патологических изменениях метаболизма происходит изменение структуры фации сыворотки, что связано с изменением содержания компонентов и конформации молекул белка. По результатам исследований может выявляться как интоксикация организма, так и общая токсичность водных сред и водных вытяжек почв и отходов. Для регистрации изменений на клеточном и молекулярном уровнях используются различные спектральные и люминесцентные методы. К аппартаным методом анализа можно отнести метод знакопеременного микроэлектофореза, а также ПЦР-анализ, которые используются для диагностики состояния клеток микроорганизмов, микроводорослей, растений, животных.

У растений и водорослей загрязнения в первую очередь влияют на фотосинтетический аппарат. В присутствии загрязнения наблюдается уменьшение содержания хлорофилла в мембранах хлоропластов растений, или снижение способности фитопланктона к продуцированию кислорода в процессе фотосинтеза. Характер изменения первичных стадий фотосинтеза отражается в изменении флуоресценции хлорофилла в фотосинтетических мембранах клеток, что может быть измерено люминометрами и флуориметрами.

Для измерения содержания токсикантов большое распространение получил метод с измерением бактериальной люминесценции. В этом методе используются бактерии-биосенсоры, содержащие lux-гены, отвечающие за синтез бактериальной люциферазы – фермента, катализирующего АТР-зависимую люциферин-люциферазную реакцию, сопровождающуюся свечением. В люминесцентных биосенсорах обычно используются морская светящаяся бактерия *Vibrio fischeri*. Однако эта методика требует строго соответствия pH, да и сам факт, что используется морская бактерия, может неадекватно отражать реакцию организма на поллютант. Поэтому были разработаны биосенсорные системы с lux-генами и более сложными генетическими конструкциями, интегрированными в более подходящие по экологическим свойствам тест-организмы: *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *Rhizobium leguminosarum*, *Ralstonia metallidurans*, *Photobacterium phosphoreum*, и позволяющими, в частности, определять биодоступность загрязнений в водных растворах, почвенных вытяжках. С помощью методов генной инженерии удалось получить мутантные клетки кишечной палочки (*Escherichia coli*), которые распознают гербицид атразин, передвигаются к месту его локализации и уничтожают его (Jou Sinha et al., 2010).

Некоторые из методов биологического тестирования используются исключительно только в научных исследованиях и разработках, другие аттестованы и допущены для использования в практике экологического государственного и производственного контроля. Так, например, специалистами Госкомэкологии РФ в 1997 году для оценки качества возвратных вод рекомендовалось использовать 8 тест-организмов (табл. 8.1). Это регламентировалось наличием соответствующих утверждённых методов в виде руководящих документов (РД) и природоохранных нормативных документов (ПНД).

По мнению многих специалистов, наиболее универсальными тест-организмами по чувствительности, адекватности реагирования на различные токсиканты являются дафнии и цериодафнии. Однако их нельзя отнести к легко культивируемым в лабораторных условиях тест-организмам, поскольку они реагируют на присутствие в помещении паров различных химических веществ и их сложно культивировать в тех лабораториях, где выполняются химические анализы. Кроме того, при наличии в питьевой воде, используемой в качестве культивационной, какого-либо фонового загрязнения (например, железа) возникают трудности при содержании тест-культуры.

Культивирование водорослей – менее сложная процедура и требует только тщательного соблюдения условий культивирования. Они в меньшей степени чувствительны к загрязненности воздуха. Но данные, полученные на водорослях при биотестировании сточных и природных вод, сложно интерпретиро-

вать из-за часто регистрируемого эффекта стимуляции, вызванного наличием в исследуемой воде биогенных веществ.

Определение токсичности вод, почв и донных отложений по ферментативной активности бактерий (набор токси-хромотест производства Канадской фирмой EBPI (Environmental Bio-detection Products Inc.) является достаточно «удобным» методом, так как при постановке эксперимента используется лифилизированная культура (высушенная под вакуумом в замороженном состоянии), что исключает необходимость в культивировании тест-культуры. Однако в данном методе в качестве тест-реакции используется визуальная колориметрическая оценка, что снижает уровень достоверности полученных результатов.

Оценка токсичности с использованием в качестве тест-организма аквариумных рыб характеризуется относительно низкой чувствительностью (как следствие повышенной адаптационой способности к действию токсикантов более высокоорганизованных организмов по сравнению с ракообразными), и сложностью при культивировании (относительно большим периодом воспроизводства) и постановке эксперимента (большие объёмы воды и анализируемого препарата).

Таблица 8.1

Методы биотестирования, рекомендованные для государственного экологического контроля (Жмур, 1997)

Метод биотестирования	Тест-организмы	Критерии токсичности
Определение токсичности воды по жизнедеятельности дафний	*Daphnia magna*	Смертность 50% за 96 ч. (острая токсичность). Достоверное снижение плодовитости за 30 сут. в сравнении с контролем (хроническая токсичность)
Определение токсичности воды по жизнедеятельности цериодафний	*Ceriodaphnia affinis*	Смертность 50% за 48 ч. (острая токсичность). Достоверное снижение плодовитости за 7 сут. в сравнении с контролем (хроническая токсичность)
Определение токсичности воды, почв и донных отложений по ферментативной активности бактерий	Лиофилизированные мутантные бактерии *Escherichia coli*	Изменение интенсивности окрашивания исследуемой среды
Определение токсичности воды по ингибированию темпа роста водорослей	*Chlorella vulgaris, Scenedecmus quadricauda*	Изменение численности клеток водорослей за 96 ч. экспозиции (острая токсичность). Изменение численности водорослей за 14 сут. (хроническая токсичность)
Определение токсичности воды по жизнедеятельности рыб	*Poecilia reticulata* или *Brachydaniorerio*	Смертность 50% за 96 ч. Достоверное снижение плодовитости за 30 сут. экспозиции
Определение токсичности воды по хемотаксической реакции инфузорий	Инфузории *Paramecium caudatum*	Хемотаксическая реакция (хемотаксис)

Использование в качестве тест-организма инфузорий *Paramecium caudatum* значительно упрощает как саму процедуру биотестирования, так и процесс культивирования. *Paramecium caudatum* малоприхотливы (культуру инфузорий в случае необходимости можно хранить в холодильнике), очень быстро размножаются, а сам процесс биотестирования занимает всего лишь несколько минут. Однако результаты с использованием данного тест-организма иногда трудно интерпретируемы. Так, например, *Paramecium caudatum* не обладают высокой чувствительностью к тяжёлым металлам, а к действию органических соединений зачастую имеют положительный хемотаксис. При тестировании относительно чистой родниковой или речной воды можно с большой вероятностью зафиксировать отрицательный хемотаксис, такой же, как при тестировании сильно загрязнённых промышленных стоков.

8.2. ПРОЦЕДУРА БИОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ

Процедура биологического тестирования состоит из следующих этапов:

1. Отбор, транспортировка, хранение анализируемого материала (осадков сточных вод, почв, отходов и т.д.);
2. Приготовление водной вытяжки и/или серии разбавлений анализируемого материала;
3. Постановка эксперимента;
4. Обработка результатов эксперимента;
5. Контроль погрешности методики токсикологического анализа.

8.2.1. ОТБОР, ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ ПРОБ АНАЛИЗИРУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Методы отбора, транспортировки, хранения, подготовки к выполнению биотестирования должны обеспечить неизменность состава проб в интервале времени между отбором и их анализом[18].

8.2.1.1. Пробы осадков сточных вод на песковых, шламовых и иловых площадках

Осадки и активный ил с шламовых и иловых площадок отбирают методом точечных проб: площадку делят на 4 равные части и отбирают 4 пробы из центра каждого квадрата послойно с глубины 0–5 см, 5–20 см и до конечной глубины площадки (но не более 1 м), массой не менее 200 г каждая. Точечная

[18] Методические рекомендации «Отбор проб почв, грунтов, осадков биологических очистных сооружений, шламов промышленных сточных вод, донных отложений искусственно созданных водоёмов, прудов-накопителей и гидротехнических сооружений» ПНД Ф 12.1:2:2.2:2.3.2-03

проба должна представлять собой часть осадка, типичную для обследуемых сооружений.

Точечные пробы осадков и шламов с иловых и шламовых площадок отбирают в зависимости от условий:

– совком из прикопов (для осадков малой влажности);

– щупом с продольной щелью и поворотным устройством (для осадков высокой влажности и сыпучих осадков);

– винтообразным щупом (для пастообразных осадков).

Единичные пробы тщательно перемешивают и квартуют 3–4 раза. Оставшийся после квартования осадок делят на 6–9 квадратов, из центра каждого отбирают примерно одинаковые количества осадка, обеспечивая захват всей толщины слоя.

Масса объединенной пробы должна быть не менее 1 кг (0,5 кг для анализа и 0,5 кг для хранения дубликата).

Пробы хранят в холодильнике в стеклянной банке с притертой или плотно завинченной крышкой. Пробы осадков и активного ила с шламовых и иловых площадок не консервируют.

Жидкие осадки сточных вод отбирают из трубопроводов или технологических аппаратов и других емкостей с учетом их конструкции:

– осадок после отстойников, илоуплотнителей, метантенков отбирают из трубопровода при перекачивании осадка в приемник, не ранее чем через 10 минут работы перекачивающего насоса;

– активный ил отбирают зачерпыванием из распределительного лотка.

Точечные пробы жидких осадков отбирают из трех горизонтов (поверхность, середина, дно площадки) с интервалом 10 минут в количестве четырех-пяти, объемом не менее 500 см^3 каждая. Затем сливают в отдельную емкость и тщательно перемешивают. Для анализа отбирают объединенную пробу жидких осадков в количестве не менее 1 дм^3 (0,5 дм^3 для анализа и 0,5 дм^3 для хранения дубликата).

Пробы хранят в холодильнике в стеклянной банке с притертой или плотно завинченной крышкой. Пробы жидких осадков сточных вод не консервируют.

Донные отложения водоемов и прудов отбирают по следующей схеме:

– изучают устройство искусственно созданного водоема;

– составляют карту-схему, воспользовавшись проектом или гидрогеологической картой;

– определяют место выпуска (спуска) сточных вод;

– около спуска сточных вод отбирают точечные пробы с шагом 0,8–1 м на расстоянии от берега не менее 0,8–1 м;

– далее шаг отбора проб увеличивают по мере удаления от выпуска, но не более чем на 500 м;

– поскольку донные отложения водоемов и прудов представляют собой накопленную иловую массу и, в зависимости от степени чистоты пруда, слой ила может быть разной глубины, необходимо замерить толщину слоя ила, опуская отградуированный в сантиметрах шест или линейку до упора. Далее, исходя из глубины, опускают специальный пробоотборник на дно и зачерпыванием отбирают первую пробу;

– отбирают пробы послойно (минимальное расстояние между послойными точками отбора – 0,5 м).

Отбор проб послойно, особенно с глубины, важен, так как многие химические вещества по физико-химическим характеристикам могут находиться как только в верхнем слое ила (осадка), так и только в нижнем, поэтому отбор проводить до конечной глубины площадки (до песка или бетонного покрытия).

Сразу после отбора замеряют температуру пробы осадка, шлама, донных отложений или активного ила.

Отобранную точечную пробу почв, осадков, шламов, донных отложений или активного ила переносят из пробоотборника в специально подготовленную герметично закрывающуюся емкость объемом не менее 500 см^3, на которую наклеивают этикетку с указанием даты, времени, места отбора, номера и температуры пробы, а также фамилии исполнителей.

8.2.1.2. Пробы промышленных и твёрдых бытовых отходов

Время взятия и периодичность пробоотбора отходов имеет существенное значение для производств, использующих сырье переменного состава или перешедших на иной вид сырья, изменяющих технологический режим процесса или его технологическую (конструкционную) схему, а также для органических промышленных (ПО) и твёрдых бытовых отходов (ТБО). При осуществлении производственного экологического контроля за отходами частота отбора проб определяется планом-графиком, согласованным с территориальными органами государственного контроля.

Отбор проб ПО производят не реже 1 раза в год при условии неизменности технологического процесса и используемого сырья, а также в любое другое время для осуществления контрольных проверок возможных технологических сбоев. При переходе на иные сырьевые ресурсы или при изменении технологии вновь образующиеся отходы нуждаются в установлении нового класса токсичности (опасности) по результатам нового пробоотбора.

Отбор проб ТБО, а также отходов, образующихся при их сжигании (инсинерации, пиролизе) и компостировании, необходимо проводить на предприятии не реже 4 раз в год (1 раз в квартал).

Отбор проб ПО может осуществляться периодически или непрерывно. Выбираемый способ пробоотбора зависит от количества образующегося отхода в единицу времени (за один производственный цикл, сутки, год), аппаратурного оформления технологического процесса, методов сбора и накопления отхода, предполагаемой токсичности (на основании сопоставления с изученными отходами аналогичных производств).

Периодический пробоотбор. При периодическом пробоотборе объединенная проба образуется из нескольких точечных проб, отобранных в одно и то же время из одного и того же источника образования или накопления отходов (из бункера, хвостохранилища, ковша, шламонакопителя, отвала, свалки, карьера и др.). Единичные пробы отбираются в местах хранения или захоронения отходов по равномерной сети опробования.

Отбор проб производят из горных выработок (расчисток, закопушек, канав, шурфов) или скважин, пройденных с помощью буровых станков, установок или приспособлений различных конструкций. Кроме того, в местах хранения отходов, являющихся источником образования пыли, проводят измерения загрязнения воздушной среды.

В зависимости от целей исследования различают периодический пространственный, периодический глубинный и периодический смешанный пробоотбор. При периодическом пробоотборе, как правило, имеют дело с большим исходным объемом отхода (более 1 т).

Для осуществления пространственного пробоотбора намечают пробную площадку в виде квадрата со сторонами не менее 10 м. Затем отбирают с поверхности по схеме конверта 5 единичных проб (ГОСТ 17.4.4.02–84). На каждые 20 га накопителя (хранилища, свалки) закладывают не менее одной пробной площадки. Если территория накопителя составляет менее 0,5 га, размер пробной площадки должен быть не менее 5 × 5 м. Из единичных проб, отобранных с одной пробной площадки, приготавливают одну объединенную промежуточную пробу. Смесь объединенных промежуточных проб образует объединенную пробу, направляемую на исследование.

Осуществляя глубинный пробоотбор, руководствуются ориентировочной глубиной хранилища и количеством одноразово загружаемых в него отходов.

Смешанный пробоотбор заключается в отборе проб из кучи. При отборе проб из кучи рекомендуется отбирать одну единичную пробу с ее вершины (если это возможно осуществить), не менее четырех единичных проб из равноудаленных друг от друга точек основания кучи и произвольное количество точечных проб с ее боковой поверхности. Общее число проб, отбираемое из кучи высотой до 2 м, должно быть не менее 9. При увеличении высоты кучи на 1 м минимально необходимое число проб увеличивается на 4.

Непрерывный пробоотбор. При непрерывном пробоотборе объединенная проба отхода образуется из нескольких (не менее двух) единичных проб, отобранных в одном и том же месте через одинаковые промежутки времени (час, сутки, месяц). Количество и необходимый объем отбираемой пробы отхода зависит от его агрегатного состояния, влажности, степени однородности и его зернистости (для сыпучих отходов). Объединенная проба отхода может быть приготовлена из N-го количества единичных проб или из N-го количества объединенных промежуточных проб (в случае закладки нескольких пробных площадок на территории протяженных хранилищ). Недопустимо образование объединенной пробы одновременно из единичных и объединенных промежуточных проб.

Объединенная проба отхода может быть приготовлена по принципу средневзвешенности или среднепропорциональности.

По принципу средневзвешенности объединенная проба отхода образуется путем смешения одинакового массового количества вещества. Обычно так поступают, имея дело с сыпучими твердыми и пастообразными отходами с влажностью от 30 до 70%.

По принципу среднепропорциональности объединенная проба приготавливается из одинаковых объемов отходов. Наиболее часто таким образом готовят пробу полужидких отходов и паст с высокой влажностью (> 70%).

Единичные пробы отходов перед объединением тщательно гомогенизируют. Обращаясь с твердыми сыпучими и пастообразными отходами, используют металлические шпатели. Полужидкие отходы гомогенизируют встряхиванием.

Для механизированной проходки скважин применяют буровые станки и установки различных способов бурения (вращательного, ударно-канатного, пневмоударного, шнекового) и самых различных конструкций, обеспечивающих представительный отбор проб. Шурфы также могут проходиться механизированным способом.

Для ручной проходки скважин применяют буры и щупы различных конструкций.

Отбор единичных проб проводят по равномерной сетке, размер которой выбирают в соответствии с нормативными документами, действующими на предприятии, на котором образуется отход, или определяется необходимым числом единичных проб. Число единичных проб рассчитывается исходя из степени изменчивости нормируемых компонентов в данных отходах и заданной погрешности их определения.

Иногда для подтверждения представительности выбранных точек пробоотбора, производят выборочное обследование точек пробоотбора. Отбор сыпучих отходов из тары (вагон, кузов автомобиля, контейнер и др.) производят с помощью щупа. Отбор единичных проб производится погружением щупа в опробуемую массу до середины или на всю высоту тары. Масса единичных проб устанавливается в зависимости от состава опробуемого отхода и размера максимальных частиц (кусков). Расхождение по массе отдельных единичных проб не должно превышать 20%. Отобранные единичные пробы соединяют в объединенную пробу или сразу после пробоотбора, или после отдельной их подготовки до определенного этапа квартования (разравнивают на бумаге в виде квадрата, делят на четыре части, две противоположные части отбрасывают, две оставшиеся части перемешивают), а затем объединяют в нужных пропорциях.

Объединенная проба отхода (при отсутствии специальных требований) должна составлять не менее 5 кг (2,5 кг для анализа и 2,5 кг для хранения дубликата). Пробы отходов не подлежат консервированию и хранят в холодильнике (в банках с притертой или плотно закрытой крышкой) не более одной недели.

При проведении отбора проб отходов должны соблюдаться меры, исключающие загрязнение окружающей среды от применения бурового оборудования. Контроль за содержанием вредных веществ в воздухе рабочей зоны осуществляется в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005–88. При подготовке проб должны соблюдаться меры, исключающие запыление окружающей среды, и правила захоронения (складирования) материала пробы, полученного в результате сокращения объединенной пробы.

8.2.1.3. Пробы почвы

Почвы, грунты отбирают, транспортируют и хранят в соответствии с ГОСТ 12071–84, ГОСТ 27753.1–88, ГОСТ 17.4.3.01–83, ГОСТ 17.4.4.02–84 и ГОСТ 28168–89.

Необходимым условием отбора проб почв является их предохранение от вторичного загрязнения (в том числе атмосферными осадками) на всех этапах отбора проб.

Объединенную пробу составляют путем смешивания 5–10 или 15–20 единичных проб почвы (грунта), отобранных в разных точках данной пробной площадки размером не менее 10х10 м (100 $м^2$), которая располагается в типичном для данной территории месте. Объем единичных проб почвы (грунта) должен быть одинаков, поэтому для пробоотбора лучше использовать щуп.

Единичные пробы ссыпают на крафт-бумагу или клеенку, тщательно перемешивают, квартуют 3–4 раза. Оставшуюся после квартования почву делят на 6–9 квадратов, из центра которых отбирают примерно одинаковое количество почвы, обеспечивая захват всей толщины слоя, в банки из темного стекла с герметичной крышкой. Таким образом, получают объединенную пробу, масса которой должна составлять не менее 2 кг (1 кг на анализ и 1 кг для хранения дубликата).

Транспортируют пробы почв (грунтов) при температуре окружающего воздуха от +4 до +28 °С.

Пробы почв (грунтов) хранят в банках с притертой или плотно завинченной крышкой. Пробы почв (грунтов) не консервируют.

8.2.1.4. Отбор, хранение и транспортировка проб поверхностных, природных и сточных вод

Место для отбора проб выбирается в зависимости от цели контроля, характера выпуска сточных вод, а также на основании схемы размещения и взаимодействия объектов контроля с учетом их особенностей.

Пробы вод следует отбирать в турбулентных, хорошо перемешивающихся потоках.

Если нет возможности обеспечить турбулентное перемешивание жидкости, следует производить отбор в нескольких местах по сечению потока и составлять среднюю пробу, путем смешивания исходных проб.

Отбор проб вод производится из наблюдательных шурфов с использованием кратной откачки воды для создания ее турбулентного перемешивания.

Отбор сточных вод, которые поступают в водные объекты через глубинные выпуски, следует производить в колодце вне зоны действия подпора. Если сточные воды поступают через водосливное устройство, то проба отбирается непосредственно из падающей струи.

Место отбора сточных вод, отводимых в водный объект, выбирается у выпуска сточных вод в водный объект.

Для оценки влияния сточных вод на открытые водотоки на последних выбирают два контрольных створа, выше и ниже сброса стоков. Один из них располагают на расстоянии до 500 м выше источника загрязнения, вне зоны

его влияния. При этом следует учитывать, чтобы на данном участке не имелось других источников загрязнения. Второй – в месте полного смешения сточных вод с водами водотока, но не далее 500 м ниже источника загрязнения.

Пробу отбирают пробоотборникам на глубине 0,3–0,5 м от поверхности, а в зимний период – у нижней кромки льда. Не допускается отбор проб стоячей воды. На небольших водотоках пробы отбираются на средине водотока. На реках шириной 20 и более метров – у обоих берегов и на средине реки. При отборе проб на водоемах устанавливается не менее трех створов. Один совмещают со створом сброса сточных вод, второй на расстоянии 0,5 км от места сброса и третий вне зоны влияния источника загрязнения.

Отбор проб должны производить квалифицированные специалисты, прошедшие соответствующий инструктаж.

Транспортировка проб осуществляется любым видом транспорта, обеспечивающим сохранность проб и их быструю доставку, кроме общественного. Транспортировка должна быть организована таким образом, чтобы исключать перегрев и переохлаждение пробы.

Хранение и консервация проб допускается только в том случае, если анализ не может быть произведен сразу после их отбора (не позднее 6 часов после их отбора). При невозможности проведения анализа в указанный срок пробы воды охлаждают до $+2^{o}$ – $+4^{o}$C. В исключительных случаях, при отсутствии летучих органических веществ, допускается замораживание проб до -20°C и их хранение до двух недель.

8.2.2. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ВОДНОЙ ВЫТЯЖКИ ИЗ ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД, ОТХОДОВ И ПОЧВ

Водная вытяжка из осадков сточных вод и отходов готовится из соотношения твердая фаза / жидкость равным 1/10. В качестве жидкости используется культивационная вода (допускается использование дистиллированной воды).

Твердые отходы и осадки сточных вод. Проба тщательно перемешивается перекатыванием на гладкой, гибкой и плотной подстилке, затем – совком. Для пробоподготовки пробы отходов требуется 2,5 кг, пробы осадков сточных вод – 1 кг. Общий объем отобранной пробы (5 кг отходов или 2 кг осадков) делится на представительные половины, одна из частей возвращается в сосуд для хранения, оставшаяся часть разрыхляется и тщательно просматривается. В случае обнаружения частиц более 10 мм их осторожно измельчают с помощью металлического шпателя до размера менее 10 мм. Недопустимо механически размалывать смесь. Затем проба высушивается до воздушно-сухого состояния. При плохом высыхании отхода экспозицию высушивания допускается увеличивать до 24 часов.

После этого проба сокращается в 3–4 раза методом квадратирования. Тщательно перемешанную пробу разравнивают на гладкой ровной поверхности на крафт-бумаге, клеенке или полиэтиленовой пленке и с помощью линейки или специальной решетки делят на равные квадраты. Затем из квадратов в шах-

матном порядке отбирают порции, обеспечивая захват всей толщины слоя и объединяя порции в пробу с минимальной абсолютно сухой массой 200 г представительной пробы, которая делится на две части и предназначается для биотестирования и определения влажности.

Измеренная характеристика влажности используется для расчета массы воздушно-сухой пробы, предназначенной для приготовления водной вытяжки. Обычно требуется 120–200 г воздушно-сухой массы пробы. После выщелачивания 100 г абсолютно сухой массы пробы будет получено приблизительно 900 $см^3$ водной вытяжки, учитывая это, следует рассчитать общее необходимое минимальное количество отбираемой порции с учетом процедуры сокращения пробы. Масса пробы на стадии перед приготовлением водной вытяжки должна быть достаточной для получения необходимого объема экстракта для проведения биотестирования во всех предполагаемых разведениях. Проба осадков, отходов в воздушно-сухом состоянии взвешивается так, чтобы абсолютно сухая масса была 100 ± 1 г. Записывается масса и содержание влаги и помещается в сосуд для выщелачивания.

Шламы. Шламы с большим содержанием твердой фазы, не разделяющиеся самостоятельно, обрабатываются так же, как твердые отходы. Отдельно определяется содержание влаги. Масса шлама, эквивалентная 100 ± 1 г абсолютно сухой массы используется для приготовления водной вытяжки.

Шламы с большим содержанием жидкости (влажность более 70%) обрабатываются следующим образом. Жидкость фильтруется через вакуумный фильтр (0,45 мкм) и собирается 300 г влажно-твердого материала. Если такого количества пробы недостаточно для получения 200 г абсолютно сухого вещества, собирается столько, сколько необходимо. Пробы высушиваются до воздушно-сухого состояния. При плохом высушивании экспозицию допускается увеличить до 24 ч.

Проба делится на две части, в одной определяется содержание влаги, а другая часть, составляющая 100 ± 1 г абсолютно сухой массы, переносится в сосуд для выщелачивания. В рабочем журнале регистрируется масса остатка и содержание влаги в нем. Твердые шламы выщелачиваются культивационной водой в пропорции 1/10.

Жидкие отходы. Отходы и осадки сточных вод, жидкие и содержащие менее 1% взвешенного материала, не подвергаются выщелачиванию, а испытываются прямо на экотоксичность методами биотестирования после фильтрации через фильтр «белая лента».

Выполнение процедуры подготовки экстракта выщелачивания. В сосуд для выщелачивания, где находится взвешенная воздушно–сухая масса отхода или осадка сточных вод с абсолютно сухой массой 100 ± 1 г, добавляется вода, используемая для культивирования (или дистиллированная вода). Вода добавляется в сосуд для выщелачивания в соотношении сухая масса / жидкость – 1/10. Обычно это 1000 $см^3$ воды на 100 г абсолютно сухой массы. Если используется меньшее количество пробы, уменьшается количество жидкости. Нельзя использовать для выщелачивания менее 20 г твердого вещества и 200 $см^3$ воды.

Объемы воды более 10 $см^3$ измеряются мерным цилиндром, объемы меньше 10 $см^3$ мерной пипеткой.

Смесь должна перемешиваться слабо на мешалке в течение 7–8 часов таким образом, чтобы твердое вещество находилось во взвешенном состоянии. Недопустимо измельчение частиц отходов или осадков при перемешивании. Используется большая лопасть механической мешалки или магнитная мешалка, а скорость перемешивания должна быть наименьшей, при которой материал поддерживается во взвешенном состоянии (не более 70 об/мин).

После окончания перемешивания раствор с осадком оставляют на ночь (12–18 ч) для отстаивания. Затем жидкость над осадком сифонируется.

Если после отстаивания жидкость становится прозрачной, фильтрование не требуется; если же имеется какой-либо видимый взвешенный материал, то жидкость должна быть профильтрована. В случае применения фильтрования это отмечается в рабочем журнале. Фильтрация осуществляется через фильтр «белая лента» на воронке Бюхнера. Для фильтрации применяется слабый вакуум (не более 20 мм рт. ст.) с помощью водяного или электрического насоса такой же мощности. Вакуум должен быть выключен немедленно после прохождения всей жидкости через фильтр, во избежание дегазации фильтрата. В исключительных случаях, при повышенной мутности водной вытяжки из отхода после фильтрации, допускается ее отстаивание в холодильнике до 5 суток. Затем жидкость над осадком сифонируется.

Полученный экстракт выщелачивания исследуют на токсичность. Процедуру биотестирования необходимо начать не позднее, чем через 6 ч после приготовления вытяжки из осадка, отхода. Если это невозможно, допускается хранение экстракта в холодильнике не более 48 ч при температуре 4 °С.

Перед биотестированием необходимо измерить pH, температуру и содержание O_2 в полученном экстракте.

Водная вытяжка из осадков сточных вод или отходов должна иметь pH = 7,0–8,2. При необходимости пробы нейтрализуют. После нейтрализации пробы аэрируют 10–20 мин для стабилизации pH. Перед биотестированием температуру пробы доводят до 20 ± 2° С. Биотестируемая проба водной вытяжки из осадков и отходов должна иметь концентрацию растворенного кислорода не ниже 6 мг/$дм^3$, в противном случае пробу аэрируют. Данные регистрируют в журнале.

Если осадки сточных вод или отходы были разделены на жидкую и твердую фракции, результаты исследования жидкой фракции и экстракта выщелачивания из твердой фракции должны быть указаны в отчете отдельно. Если одна из этих частей была признана экотоксичной, экотоксичным признается весь отход.

Почвы. В лаборатории отобранные на токсилогический анализ почвы сначала разрыхляют вручную металлическим шпателем и освобождают от материала, заведомо относящегося к инородным (случайным) механическим включениям (возможные промышленные, строительные отходы и т.п.), а также галечника, обломков камней, корневищ, веток. Решение об изъятии таких включений из подготавливаемой пробы принимают на основе изучения полевого описания конкретного места ее отбора; эти сведения должны являться

обязательной частью сопроводительной документации к пробам, направленным на токсикологический анализ.

Перед биотестированием пробы просеивают сквозь сито размером 1 мм и доводят до воздушно-сухого состояния. Для чего пробу подсушивают в вытяжном шкафу или в хорошо проветриваемом помещении, размещая ее (в зависимости от массы и естественной влажности) в стеклянных кристаллизаторах подходящей вместимости, на стекле или на чистых листах плотной бумаги.

Размещенные таким образом пробы почвы выдерживают открытыми не менее 2 часов при комнатной температуре и влажности воздуха (ГОСТ 5180–84). Подготовленную пробу распределяют на ровной поверхности слоем толщиной не более 1 см и отбирают ложкой или шпателем из пяти точек методом конверта. Не допускается предназначенные для исследования на токсичность пробы почв подвергать тепловой обработке, поэтому гигроскопическая влажность почвы определяется в отдельном образце.

Проба с массой приблизительно 400 г делится на две равные части: для биотестирования и для определения гигроскопической влажности после высушивания до постоянной массы, что необходимо для пересчета воздушно-сухой пробы на массу абсолютно сухой по формуле:

$$\Delta M_{\text{возд.сух.}} = \frac{\Delta M_{\text{абс.сух.}}}{K_{\text{ср}}}, \qquad (8.1)$$

где $\Delta M_{\text{абс.сух.}}$. – масса абсолютно сухого образца, г; $\Delta M_{\text{возд.сух.}}$ – масса воздушно-сухого образца почвы, г; $K_{\text{ср.}}$– коэффициент пересчета массы воздушно–сухой пробы на массу абсолютно сухой (среднее расчетное значение из трех измерений).

Для определения массовой доли почвы в воздушно-сухой пробе необходимо:

1. Взвесить три пустых высушенных бюкса с крышками и зафиксировать их массы (M_{0i}), затем взвесить эти же бюксы с навесками воздушно-сухой пробы (около 1 г) и зафиксировать их массы ($M_{\text{возд.сух.}i}$).

2. Установить открытые бюксы с воздушно–сухими пробами в сушильный шкаф. Пробы выдержать в сушильном шкафу в течение 3 ч при температуре от 105 до 115°С. Закрыть бюксы притертыми крышками, перенести их в эксикатор и выдержать там до полного остывания (около 40 мин). Взвесить бюксы с навесками абсолютно сухой пробы и зафиксировать их массы ($M_{\text{абс.сух.}i}$). После взвешивания пробы почвы следует повторно высушить в течение 2 ч, затем охладить в эксикаторе и снова взвесить. После первого и второго высушивания допустимое расхождение в массе не должно превышать 0,005 г. В противном случае высушивание следует повторить. Точность взвешивания для всех экспериментов должна составлять 0,001 г.

3. Рассчитать значения коэффициента пересчета K_i для каждого эксперимента по формуле:

$$K_i = \frac{M_{\text{абс.сух}i} - M_{0i}}{M_{\text{возд.сух}i} - M_{0i}}, \qquad (8.2)$$

где K_i – коэффициент пересчета в i-м измерении; $M_{абс.сух.i}$ – масса бюксы с абсолютно сухим образцом в i-м измерении, г; M_{0i} – масса пустой бюксы в i-м измерении, г.

4. Так как по результатам измерений получено три значения коэффициента, производят расчет его среднего значения ($K_{ср}$) по формуле:

$$K_{cp} = \frac{K_1 + K_2 + K_3}{3}. \qquad (8.3)$$

Далее среди трех величин K_i рассчитывают размах R полученных значений с учетом максимальной (K_{max}) и минимальной (K_{min}) величин по формуле:

$$R = \frac{K_{max} - K_{min}}{K_{cp}} \times 100\%. \qquad (8.4)$$

Если полученное значение $R > 10\%$, то эксперимент повторяют, устранив причину неудовлетворительных результатов.

Водную вытяжку из почвы для биотестирования готовят в соотношении: 1 часть почвы (с учетом гигроскопической влажности) и 4 части культивационной воды (допускается использование дистиллированной воды). Вода не должна содержать CO_2, так как в его присутствии растворяются карбонаты кальция и магния по причине образования растворимых бикарбонатов, которые увеличивают сухой остаток и общую щелочность водной вытяжки и тем самым искажают результаты биотестирования.

Для приготовления водной вытяжки из почвы отвешивают 100–200 г пробы почвы в воздушно-сухом состоянии, пересчитав её массу на массу абсолютно сухой. Масса пробы на стадии перед приготовлением водной вытяжки должна быть достаточной для получения необходимого объема экстракта при проведении биотестирования во всех предполагаемых разведениях с учетом контрольных испытаний. Навеску почвы помещают в колбу емкостью 1000 см^3 и приливают 4-кратное количество культивационной воды.

Далее на аппарате для встряхивания жидкости полученную смесь в течение 2 часов встряхивают, после чего отстаивают в течение 30 мин. Надосадочная жидкость сифонируется. А затем профильтровывается через бумажные обеззоленные фильтры «белая лента» или через мембранные фильтры с диаметром пор 3,5 мкм (фильтры предварительно промывают и кипятят в дистиллированной воде не менее 10 мин). Бумажный фильтр помещают в воронку Бюхнера диаметром 15–20 см.

Перед тем как вылить вытяжку на фильтр, содержимое колбы встряхивают, чтобы взмутить присутствующие взвешенные частицы почвы. На фильтр стараются перенести всю взвесь. При выливании струю суспензии направляют на боковую двойную стенку бумажного фильтра, но не на дно фильтра, т.к. при выливании на дно бумага может порваться. Фильтрация осуществляется с помощью вакуумного водяного или электрического насоса. Для фильтрации применяется слабый вакуум (не более 20 мм рт. ст.). Первые порции фильтрата бывают мутными, и их нужно несколько раз перефильтровать до прозрачного раствора.

При повышенной мутности водной вытяжки из почв (гумусированные, дерновоподзолистые, торфяные и др. почвы) допускается отстаивание в холодильнике до 5 суток. Затем жидкость над осадком сифонируется. Вытяжка из почв должна иметь величину pH в диапазоне 7,0–8,2. При необходимости вытяжку перед серийным разбавлением предварительно нейтрализуют. После нейтрализации пробы аэрируют 10–20 мин для стабилизации pH. Непосредственно перед началом биотестирования пробы доводят до температуры 20 ± 2^0С. Биотестируемая проба водной вытяжки из почв должна иметь концентрацию растворенного кислорода не ниже 6 мг/дм^3, в противном случае пробу аэрируют.

8.2.3. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАЗБАВЛЕНИЙ ИССЛЕДУЕМЫХ ВОД ДЛЯ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Для приготовления разбавлений исследуемых вод используется культивационная вода (дистиллированная вода для одноклеточных водорослей). Предварительно, перед приготовлением необходимых разбавлений вод для исследования, подготавливают соответствующей емкости посуду, в которой будут готовить растворы. Объем используемой посуды должен на 1/3 превышать необходимый объем приготавливаемого разбавления исследуемых вод.

Перед приготовлением разбавлений нужно подготовить по возможности два одинаковых сосуда: один для разбавления, а другой для хранения раствора (может случиться, что в ближайшие часы процедуру биотестирования в определенном разбавлении необходимо будет повторить). Как во время приготовления разбавлений, так и при их хранении бутыли или другая посуда обязательно должны быть закрыты предварительно подобранными пробками и снабжены надписями о приготовленной «концентрации» исследуемых вод. Приготовление растворов, разбавлений, проведение биотестирования выполняются при комнатной температуре. Температура культивационной и исследуемой воды должна быть также доведена до комнатной температуры перед приготовлением разбавлений.

Для приготовления разбавлений берут определенные, отмеренные мерной посудой, объемы исследуемой и разбавляющей (культивационной, или дистиллированной) воды. В качестве мерной посуды для объемов меньше 10 см^3 используются мерные пипетки. Для объемов более 10 см^3 – мерные цилиндры. Осадки сточных вод, водные вытяжки промышленных, бытовых отходов, почв, если не известны их токсические свойства, тестируются в первичном испытании в большем наборе разведений при 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,5; 0,78%-ной «концентрации». Если предварительно известно, что воды обладают гипертоксичностью, а также, если это можно предположить по данным гидрохимического исследования, исследуемые «концентрации» уменьшаются и составляют 10; 3; 0,3; 0,1%. Возможен произвольный выбор разведений. Чем выше предполагаемая токсичность, тем большей должна быть кратность разбавлений исходной пробы.

После получения предварительных результатов биотестирования при необходимости готовятся и анализируются дополнительные разбавления.

Если при первичном токсикологическом испытании разбавление водных вытяжек делается в стандартных (предложенных выше «концентрациях») или наугад, то при повторном исследовании разбавления готовят, исходя из полученных результатов проведенных исследований.

В процессе приготовления разбавлений пробы тщательно перемешивают.

При выполнении практического биотестирования используют в основном два (наиболее важных) показателя, характеризующих содержание исследуемой воды в разбавленном (культивационной водой) растворе: во сколько раз исследуемая вода разбавлена и каково ее процентное содержание в разбавлении. Данные показатели заносят в рабочий журнал.

Пример: Как путём разбавления получить x%-ный раствор сточной воды и рассчитать, во сколько раз она разбавлена. Величину x будем измерять в долях. Тогда единица соответствует раствору, в котором x – доля исследуемой воды и (1– x) – доля чистой культвационной воды. Культивационной воды в растворе больше, чем сточной в $(1-x)/x$ раз. Степенью разбавления называется величина $1/x$. Если x измеряется в процентах, то эта величина запишется в виде: $100\%/x\%$.

Итак, если к одной доле сточной воды (x) добавить некое количество долей (1 – x) дистиллированной воды, мы получим x%–ный раствор. Например, для получения 25%–ного раствора сточных вод вычислим степень разбавления

$$\frac{100\%}{25\%} = 4 .$$

Следовательно, 1 доля сточных вод и 3 доли культивационной воды составят при смешении 25%-ный раствор сточных вод, т.е. 25%-ный раствор сточных вод получится при их 4-кратном разбавлении.

8.2.4. ПОСТАНОВКА ЭКСПЕРИМЕНТА БИОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ

Основным этапом биологического тестирования является постановка эксперимента. Рассмотрим несколько «классических» методов исследований (биотестирование с использованием ракообразных и водорослей) и несколько современных методов (биотестирование по хемотаксической реакции инфузорий, ферментативной активности бактерий и метод клеточного микроэлектрофореза).

8.2.4.1. Эксперименты по установлению острого токсического действия на Daphnia magna[19]

Методика основана на определении смертности и изменений в плодовитости дафний (*Daphnia magna Straus, Cladocera, Crustacea)* при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемой водной среде, по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих токсических веществ (контроль).

Острое токсическое действие исследуемой воды или водной вытяжки из почв, осадков сточных вод и отходов на дафний определяется по их смертности (летальности) за определённый период экспозиции. Критерием острой токсичности служит гибель 50% и более дафний за 96 часов в исследуемой воде при условии, что в контрольном эксперименте гибель не превышает 10%:

– среднюю летальную концентрацию отдельных веществ (кратность разбавления воды или водной вытяжки из почв, осадков сточных вод и отходов, содержащих смеси веществ), вызывающую гибель 50% и более тест–организмов ($ЛК_{50–96}$, $ЛКР_{50–96}$);

– безвредную (не вызывающую эффекта острой токсичности) концентрацию отдельных веществ (кратность разбавления воды или водной вытяжки из почв, осадков сточных вод и отходов, содержащих смеси веществ), вызывающую гибель не более 10% тест-организмов ($БК_{10–96}$, $БКР_{10–96}$).

Для определения острого токсического действия проводится биотестирование исходной исследуемой воды или водной вытяжки из почв, осадков сточных вод, отходов и нескольких их разбавлений.

Определение токсичности каждой пробы без разбавления и каждого разбавления проводится в трех параллельных сериях. В качестве контроля используются три параллельные серии с культивационной водой.

Биотестирование проводится с соблюдением требований к температуре, продолжительности фотопериода и качеству культивационной воды.

Биотестирование проводится в химических стаканах объемом 150–200 $см^3$, которые заполняются 100 $см^3$ исследуемой воды, в них помещают по десять дафний в возрасте 6–24 ч. Чувствительность дафний к токсикантам зависит от возраста рачков, поэтому в протоколе отмечают возраст используемой молоди. Возраст определяется по размеру рачков и обеспечивается фильтрацией рачков через набор сит. Дафний отлавливают из культиваторов, в которых выращивается синхронизированная культура. В отдельный химический стакан отсаживают одновозрастных рачков после фильтрации их через набор сит, а затем отлавливают по одному пипеткой (с отпиленным и оплавленным концом) объемом 2 $см^3$ с резиновой грушей. Помещают рачков по одному на сачок, через который вода сливается в отдельный химический стакан, после чего дафний сачком вносят в стаканы с исследуемой водой.

---

[19] ФР.1.39.2007.03222 Биологические методы контроля. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний.

Посадку рачков начинают с контрольной серии. В исследуемые растворы дафний помещают, начиная с больших разбавлений (меньших концентраций загрязняющих веществ) к меньшим разбавлениям. После каждой посадки в исследуемые растворы сачок тщательно промывается в сосуде объемом 2 $дм^3$ с культивационной водой. Для работы с серией контроля должен быть отдельный сачок.

Для каждой серии исследуемой воды используется 3 химических стакана. Общее количество стаканов, используемых в опытах, равно утроенной сумме всех разбавлений плюс 3 для исходной воды и 3 для контроля.

В экспериментах по определению острой токсичности дафний кормят перед началом эксперимента, в последующие сутки – ежедневно. В экспериментах по определению острой токсичности растворы не меняют. Учет смертности дафний в опыте и контроле проводят через каждый час до конца первого дня опыта, а затем 2 раза в сутки ежедневно до истечения 96 часов. Неподвижные особи считаются погибшими, если не начинают двигаться в течение 15 секунд после легкого покачивания стакана.

Результаты наблюдений заносят в рабочий журнал. Если гибель дафний в контроле превышает 10%, результаты опыта не учитывают, и он должен быть повторен.

После того как результаты эксперимента учтены, всех дафний из стаканов удаляют и в каждом стакане проводят измерения pH, температуры, содержания растворенного кислорода с помощью оксиметра. Содержание растворенного кислорода в конце эксперимента должно быть не ниже 2 $мг/дм^3$, pH в диапазоне 7,0–8,2. Все отклонения от установленных норм, а также данные по каждой серии разбавлений, исходной воды и контролю также заносят в рабочий журнал и протокол результатов эксперимента.

8.2.4.2. Эксперименты по установлению острого токсического действия на Ceriodaphnia affinis[20]

Методика основана на определении смертности и изменений в плодовитости цериодафний (*Ceriodaphnia affinis, Cladocera, Crustacea)* при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемой водной среде, по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих токсических веществ (контроль).

Острое токсическое действие исследуемой воды или водной вытяжки из почв, осадков сточных вод и отходов на дафний определяется по их смертности (летальности) за определённый период экспозиции. Критерием острой токсичности служит гибель 50% и более дафний за 48 часов в исследуемой воде при условии, что в контрольном эксперименте гибель не превышает 10%:

– среднюю летальную концентрацию отдельных веществ (кратность разбавления вод или водной вытяжки из почв, осадков сточных вод и отходов,

[20] ФР.1.39.2007.03221 Биологические методы контроля. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний.

содержащих смеси веществ), вызывающую гибель 50% и более тест–организмов ($ЛК_{50–48}$, $ЛКР_{50–48}$);

– безвредную (не вызывающую эффекта острой токсичности) концентрацию отдельных веществ (кратность разбавления воды или водной вытяжки из почв, осадков сточных вод и отходов, содержащих смеси веществ), вызывающую гибель не более 10% тест–организмов ($БК_{10–48}$, $БКР_{10–48}$).

Для определения острого токсического действия проводится биотестирование исходной исследуемой воды или водной вытяжки из почв, осадков сточных вод, отходов и нескольких их разбавлений.

Определение токсичности каждой пробы без разбавления и каждого разбавления проводится в десяти стаканах в двух повторностях и сопровождают одной для всех разбавлений серией контроля в 10 стаканах.

Биотестирование проводится с соблюдением требований к температуре, продолжительности фотопериода и качеству культивационной воды.

Биотестирование проводится в химических стаканах вместимостью 30 $см^3$, которые заполняют 15 $см^3$ исследуемой воды, в них помещают по одной цериодафнии не более 24–часового возраста (разница между возрастом рачков не должна составлять более 8 часов, что определяется по размеру рачков и обеспечивается синхронизированным культивированием). Цериодафний отлавливают из химических стаканов, в которых выращивают синхронизированную культуру, пипеткой вместимостью 2 $см^3$ (с отпиленным и оплавленным концом) с резиновой грушей. Помещают их по одной на сачок, через который вода сливается в отдельный химический стакан, после чего цериодафний сачком вносят в стаканы с исследуемой водой. Посадку рачков начинают с контрольной серии. В исследуемые растворы цериодафний помещают, начиная с больших разбавлений (меньших концентраций загрязняющих веществ) к меньшим разбавлениям. После каждой посадки в исследуемые растворы сачок тщательно промывают в сосуде объёмом 2 $дм^3$ с культивационной водой. Для работы с серией контроля должен быть отдельный сачок.

Цериодафнии могут пострадать от наличия на поверхности раствора маслянных капель или плёнок, к которым они прилипают, травмируются и могут погибнуть. В тех случаях, когда нельзя избежать образования таких пятен или плёнок, необходимо сеткой из мельничного газа создать преграду для доступа рачков к поверхности исследуемых растворов.

В экспериментах по определению острой токсичности цериодафний кормят перед началом эксперимента, а в последующие сутки ежедневно, один раз в сутки, добавляя 0,2 $см^3$концентрованной или в 2 раза разбавленной дистилированной водой водорослевой суспензии на 15 $см^3$ культивационнойводы.

В экспериментах по определению острой токсичности растворы не меняют.

Учёт смертности цериодафний в опыте и контроле проводят через каждый час до конца первого дня опыта, а затем 2 раза в сутки ежедневно до истечения 48 часов.

Неподвижных особей считают погибшими, если они не начинают двигаться в течение 15 секунд после лёгкого покачивания стакана.

Если гибель цериодафний в контроле превышает 10%, результаты не учитывают, и он должен быть повторён.

После того как результаты эксперимента учтены, всех цериодафний из стаканов удаляют и в каждом стакане проводят измерения pH, температуры, содержания растворенного кислорода с помощью оксиметра. Содержание растворенного кислорода в конце эксперимента должно быть не ниже 4 мг/дм^3, pH в диапазоне 7,0–8,5. Все отклонения от установленных норм, а также данные по каждой серии разбавлений, исходной воды и контролю также заносят в рабочий журнал и протокол результатов эксперимента.

8.2.4.3. Эксперименты по установлению острого токсического действия на Chlorella vulgaris[21]

Методика основана на регистрации снижения уровня флуоресценции хлорофилла и темпа роста (снижение численности) клеток водорослей под воздействием токсических веществ, присутствующих в тестируемой воде, водной вытяжке из почв, осадков сточных вод, отходов (опыт) по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих токсических веществ (контроль).

Критерием острой токсичности является подавление флуоресценции хлорофилла или снижение численности клеток водорослей на 50% и более по сравнению с контролем в течение 72-часовой экспозиции.

В экспериментах по определению острого токсического действия устанавливают:

1) острую токсичность, или ингибирующую концентрацию отдельных веществ ($ИК_{50–72}$), или ингибирующую кратность разбавления ($ИКР_{50–72}$) воды и водных вытяжек, содержащих смеси веществ, вызывающую снижение уровня флуоресценции хлорофилла или снижение численности клеток водорослей на 50% и более по сравнению с контролем за 72 часа экспозиции;

2) безвредную (не вызывающую эффекта острой токсичности) концентрацию ($БК_{20–72}$) отдельных веществ и безвредную кратность разбавления ($БК_{20–72}$) воды и водных вытяжек, содержащих смеси веществ, вызывающих снижение уровня флуоресценции хлорофилла или численности клеток водорослей не более чем на 20% по сравнению с контролем за 72 часа экспозиции.

---

[21] ФР.1.39.2007.03223. Биологические методы контроля. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей

Подготовка тест-культуры к эксперименту. Для биотестирования используют альгологически чистую культуру водорослей *Chlorella vulgaris,* находящуюся в экспоненциальной стадии роста (через 5–7 суток после пересева). Для поддержания экпоненциальной стадии роста водорослей пересев осуществляется регулярно 1 раз в 7 суток.

Перед пересевом в начале биотестирования исходная культура водорослей сгущается до образования суспензии путем центрифугирования (5 мин при 6 тыс. об/мин) или фильтрования через мембранный фильтр. В полученной суспензии с помощью камеры Горяева определяется исходная численность клеток водорослей в камере Горяева, чтобы рассчитать необходимый объем добавки суспензии, обеспечивающий нужную плотность клеток при пересеве. Для подсчета в камере Горяева суспензия разбавляется средой Успенского (табл. 8.2) и с учетом произведенного разведения подсчитывается количество клеток водорослей. Затем суспензия добавляется в контрольные и тестируемые воды.

Таблица 8.2

Состав питательной среды для культивирования водорослей

Среда Успенского	
Вещество	**Концентрация, мг/л**
KNO_3	25
$MgSO_4$	25
$Ca(NO_3)_2$	144
KH_2PO	25
K_2CO_3	34,5

После пересева и тщательного перемешивания водоросли подсчитываются в камере Горяева независимо от того, какой метод измерения (прямой счет или флюоресцентный) будет в дальнейшем использоваться.

Численность водорослей в начале биотестирования должна составлять в каждой колбе 25–35 тыс. кл./см^3. Повторный счет водорослей в камере Горяева осуществляется при использовании метода прямого счета водорослей после установленного времени экспозиции контрольных и исследуемых вод в колбах в люминостате. При использовании метода измерения уровня флуоресценции хлорофилла, после экспозиции в люминостате счет в камере Горяева не осуществляют, а измеряют уровень флуоресценции на приборе.

Для определения численности клеток водорослей камеру Горяева необходимо предварительно накрыть покровным стеклом и притирать его до образования радужных колец интерференции. После чего перемешать в колбе водоросли и затем пипеткой нанести по одной капле произвольного объема на верхний и нижний края покровного стекла. После того как камера Горяева заполнится водорослевой культурой, ее помещают под объектив микроскопа (с увеличением в 100 раз) и подсчитывают число клеток в 25 больших квадратах, а затем по формуле определяют количество клеток водорослей в см^3 раствора:

$$X = n \cdot 10^4 \text{ кл./см}^3, \qquad (8.5)$$

где X – количество клеток в см^3; n – число клеток в 25 больших квадратах; 10^4 – переводной коэффициент пересчета кубических мм в кубические см.

В каждой пробе подсчитываются клетки водорослей как минимум в двух камерах с последующим вычислением среднего арифметического.

Процедура биотестирования и выполнение измерений при использовании прямого счета численности клеток водорослей. При определении острой токсичности проб сточных и очищенных сточных, поверхностных пресных, грунтовых, питьевых вод, а также водных вытяжек из почвы, осадков сточных вод и отходов, в стеклянные плоскодонные колбы емкостью 250 см^3 наливают по 100 см^3 контрольной (дистиллированной) и тестируемой воды. Повторность трехкратная. Затем в каждую колбу пипеткой стерильно, над пламенем горелки добавляют по 0,1 см^3 каждого концентрированного раствора реактивов в порядке расположения в табл. 8.2. Содержимое колб перемешивают. После чего во все колбы добавляют равные объемы суспензии водорослей, с учетом того, чтобы численность клеток в них составила 25–35 тыс. кл./см^3. Например, при исходной численности культуры водорослей 2,5 млн. кл./см^3 во все колбы следует добавить по 1 см^3 водорослевой суспензии. Допускается использование колб емкостью 100 см^3, при этом объем контрольной и тестируемой пробы составит 50 см^3, а объем каждого концентрированного раствора реактивов – по 0,05 см^3, объем водорослевой суспензии 0,5 см^3, численность клеток в каждой колбе остается 25–35 тыс. клеток в см^3. Содержимое колб вновь перемешивают. Сразу после перемешивания производится подсчет клеток водорослей в камере Горяева во всех контрольных и испытуемых пробах. В каждой колбе дважды подсчитывают численность клеток. Содержимое колб вновь перемешивают, закрывают стерильными ватно–марлевыми пробками или стерильными колпачками из алюминиевой фольги и устанавливают в люминостат. Температура в люминостате должна поддерживаться от +22 до +25 °С, освещенность 3000–4000 лк. Клетки водорослей следует поддерживать во взвешенном состоянии в колбах путем встряхивания 1–2 раза в сутки или перемешивания на мешалке, чтобы улучшить газообмен и сократить колебания водородного показателя за счет выделяющегося углекислого газа водорослями в исследуемых растворах.

Далее подсчет численности клеток в камере Горяева в контрольных и опытных колбах проводят через 72 часа от начала биотестирования. При необходимости подсчет численности клеток можно проводить через 24, 48, 72 часа. После 72-часовой экспозиции биотестирование заканчивают. Данные регистрируются в рабочем журнале.

Результаты эксперимента признаются в том случае, если численность водорослей в контроле увеличилась в 10 и более раз за 96 часов экспозиции. Это увеличение соответствует скорости роста 0,7 сут$^{-1}$. В нормальных экспериментальных условиях могут быть достигнуты скорости роста от 1,5 до 1,9 сут$^{-1}$ (ISO 8692). Увеличение pH в конце эксперимента не должно составлять более 1,5.

Процедура биотестирования и выполнение измерений по изменению уровня флуоресценции хлорофилла. После приготовления контрольных и тестируемых проб, добавления растворов реактивов, суспензии водорослей

и перемешивания содержимого колб водоросли подсчитывают в камере Горяева, чтобы убедиться, что их численность составляет не менее 25–35 тыс. кл./см^3. После этого содержимое колб тщательно перемешивают и закрывают их ватно-марлевыми пробками или алюминиевой фольгой и помещают на 30 минут в люминостат. Температура в люминостате должна поддерживаться от +22 до +25°С, освещенность 3000–4000 лк. После чего в каждой колбе на приборе измеряют уровень флуоресценции. Для этого поочередно каждую колбу с водорослями выдерживают 3 мин в темноте (темновая фаза), затем вынимают ее из темноты, перемешивают и часть содержимого колбы наливают в кювету из кварцевого стекла (прилагается к прибору), которую затем помещают в камеру флюориметра.

Прибор устанавливается в режим измерения и в течение 30 секунд с момента появления на индикаторном табло первых цифр, наблюдают за его показаниями; зафиксированное максимальное значение уровня флуоресценции отмечается и заносится в журнал. Максимальный уровень флуоресценции в каждой колбе замеряется дважды и устанавливается среднее значение из двух измерений в каждой колбе. Одна и та же проба подобным образом измеряется в трех параллельных колбах.

После измерения колбы с контрольными и тестируемыми пробами переносят обратно в люминостат.

Замеры уровня флуоресценции в контрольных и опытных колбах проводятся через 30 мин и 96 часов от начала биотестирования. При необходимости дополнительные замеры можно проводить через 24, 48, 72, 96 часов. После 96-часовой экспозиции биотестирование заканчивают. Данные регистрируют в рабочем журнале.

Результаты эксперимента признаются в том случае, если уровень флуоресценции в контроле возрос в 10 и более раз за 96 часов экспозиции. Увеличение pH в конце эксперимента не должно составлять более 1,5.

8.2.4.4. Методика определения токсичности вод, почв и донных отложений по ферментативной активности бактерий (колориметрическая реакция)[22]

Измерения производятся с использованием в качестве тест-объекта препарата лиофилизированных мутантных бактерий *Escherichia coli* и стандартного промышленно изготавливаемого комплекта «токси-хромотест». Метод определения токсичности основан на способности токсикантов подавлять синтез энзима b–галактозидазы у мутантных бактерий *E. coli,* подавление синтеза сопровождается цветовой реакцией.

---

[22] ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.1-96 16.2:2.2.1-96. Токсикологические методы контроля. Методика определения токсичности вод, почв и донных отложений по активности бактерий.

Критерием токсического действия является уменьшение интенсивности окрашивания тестируемой воды в исследуемой пробе по сравнению с таковой для пробы с раствором, не содержащим токсических веществ, пропорционально токсическому эффекту. Оценка токсичности производится визуально, проба считается токсичной, если она дала светло-голубое окрашивание и оно менее интенсивное, чем в контроле.

При проведении биотестирования температура исследуемой пробы должна соответствовать комнатной температуре.

Вся процедура подготовки разбавлений и анализа исследуемой воды и водных вытяжек из почвы и донных осадков проводится в пластиковых модулях, 3 таких модуля прилагаются к комплекту (рис. 8.2).

Рис. 8.2. Модуль комплекта «токси-хромотест»

Каждый модуль состоит из углублений-сосудов, размеченных на 12 колонок по вертикали (обозначены от 1 до 12) и 8 рядов по горизонтали, обозначенных буквами: A, B, C, D, E, F, G, H (табл. 8.3).

Первая вертикальная колонка сосудов используется для опыта без внесения бактерий (отсутствие биотеста), чтобы исключить ошибки за счет возможной цветовой реакции химических веществ, входящих в состав исследуемой пробы.

Вторая вертикальная колонка сосудов используется для контроля чувствительности культуры бактерий к стандартному токсиканту – хлориду ртути. Контроль со стандартным токсикантом проводится при каждом исследовании.

Остальные десять вертикальных колонок могут быть использованы для пяти проб исследуемой воды различных разбавлений в двух повторностях.

Таблица 8.3

План проведения биотестирования в пластиковом модуле набора «токси-хромотест»

Ряды	**Колонки**											
	Без внесения бактерий	**HgCl, мкг/см^3**	**Проба 1**		**Проба 2**		**Проба 3**		**Проба 4**		**Проба 5**	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		4	1	1								
B		2	1:2	1:2								
C		1	1:4	1:4								
D		0,5	1:8	1:8								
E		0,25	1:16	1:16								
F		0,125	1:32	1:32								
G		0,06	1:64	1:64								
H, контроль		0	0	0								

Восемь рядов углублений-сосудов в пластиковом модуле, обозначенных буквами от A до H, используются для различных разбавлений исследуемой воды:

A – неразбавленная вода;
B – разбавленная исследуемая вода, разбавление 1:2;
C – разбавление 1:4;
D – разбавление 1:8;
E – разбавление 1:16;
F – разбавление 1:32;
G – разбавление 1:64;
H – разбавляющая вода, контроль.

В набор «токси-хромотест» кроме модулей входит комплект необходимых растворов и лиофилизированной культуры бактерий:

бутыль A – среда реагирования;
бутыль B – лиофилизированные бактерии;
бутыль C – раствор для культивации;
бутыль D – стандартный токсикант (HgCl);
бутыль G – раствор для разбавления проб;
бутыль F– хромогенный субстрат.

Порядок проведения эксперимента следующий:

1. Из бутыли G (входящей в комплект) разлить раствор для разбавления проб микропипеткой по 0,1 см^3, кроме ряда A (где исследуемая вода анализируется без разбавления). Если исследуют 5 проб одновременно, то заполнять все углубления-сосуды пластикового модуля. Если одна проба, то все сосуды до колонки 5.

2. Из бутыли D (входящей в комплект) налить 0,2 см^3 стандартного токсиканта в первую ячейку колонки 2 модуля (A2), тщательно перемешать отобрать 0,1 см^3 раствора и перенести в ячейку B2, тщательно перемешать и перенести 0,1 см^3 в ячейку C2; повторить эту процедуру для всех ячеек, удалив из последней ячейки G2 0,1 см^3, как избыточный объем.

3. Налить по 0,2 см^3 первой исследуемой пробы в первые ячейки ряда A колонки модуля 3 и 4 (ячейки A3 и A4) и, используя описанную в п. 2 процедуру осуществить последовательное разбавление.

4. Если необходимо проконтролировать несколько проб, то готовятся их разбавления в колонках 5–12, так же как это и было описано в пунктах 2 и 3.

5. Из бутыли A (входящей в комплект) разлить раствор в объёме 0,1 см^3 во все ячейки колонки 1 для опыта без внесения бактерий (отсутствие биотеста).

6. Осуществить процедуру регидрирования лиофилизированных бактерий. Удалить пломбы и крышки с бутылей B и C (входящих в комплект) и немедленно перенести раствор из бутыли C в бутыль B. Хорошо перемешать, осторожно встряхивая. Оставить бутыль B с суспензией бактерий на 15 мин при комнатной температуре для регидрирования бактерий. Затем 1 см^3 полученной суспензии бактерий перенести в среду реагирования (бутыль A).

7. Полученную среду реагирования, включающую бактерий, разлить из бутыли А по 0,1 см^3 в каждый сосуд колонки 2 (со стандартным токсикантом) и колонок 3–4 для первой пробы, колонок 5–6 для второй и т.д.

8. Инкубировать полученные растворы в пластиковом модуле при 37°С в термостате 90 минут.

9. Вынуть модуль из термостата и добавить 0,1 см^3 хромогенного субстрата из бутыли F (входящей в комплект) во все заполненные сосуды.

10. Инкубировать полученные растворы в пластиковом модуле при 37°С 90 мин. Если за время инкубации цвет в контрольных сосудах ряда Н не достигнет интенсивно-синего, инкубировать еще 20 мин.

11. Если безвредное разбавление исследуемых вод или водных вытяжек из почвы, донных осадков в стандартном ряде разбавлений не найдено, эксперимент повторяется с исследованием дополнительного ряда разбавлений, где в качестве первого разбавления используется максимальное предыдущего разбавление пробы и далее используется восходящий ряд разбавлений по п. 2.

Вся грязная посуда после проведения анализов должна подвергаться стерилизации кипячением в течение 1 часа.

8.2.4.5. Определение токсичности воды по хемотаксической реакции инфузорий[23]

Метод определения токсичности вод по хемотаксической реакции инфузорий основан на способности тест-объектов реагировать на присутствие в водной среде веществ, представляющих опасность для их жизнедеятельности, и направленно перемещаться по градиенту концентраций (в направлении изменения концентраций) этих веществ (хемотаксическая реакция), избегая их вредного воздействия.

Хемотаксическая реакция реализуется при условии наличия стабильного во времени градиента концентраций химических веществ. Подобный градиент создается путем наслоения в вертикальной кювете (пробирке) на взвесь инфузорий в загустителе испытуемой жидкости. При этом в измерительной кювете образуется стабильная граница раздела, сохраняемая в течение всего времени биотестирования. Эта граница не препятствует свободному перемещению инфузорий в предпочтительном для них направлении и при этом предотвращает перемешивание жидкостей из нижней и верхней зон. После создания в кювете двух зон в течение 30 минут происходит перераспределение инфузорий по зонам. Важная особенность поведенческой реакции инфузорий – массовое перемещение организмов в верхние слои жидкости.

В случае если исследуемая проба не содержит токсических веществ, в кювете будет наблюдаться концентрирование клеток инфузорий в верхней зоне.

Наличие в исследуемой пробе токсических веществ, приводит к иному характеру перераспределения инфузорий в кювете, а именно: чем выше токсичность пробы, тем меньшая доля инфузорий перемещается в верхнюю зону (исследуемую пробу).

---

[23] ПНД ФТ 14.1:2:3:4.2-98 Методика определения токсичности воды по хемотаксической реакции инфузорий.

Критерием токсического действия является значимое различие в числе клеток инфузорий, наблюдаемых в верхней зоне кюветы в пробе, не содержащей токсических веществ (контроль), по сравнению с этим показателем, наблюдаемым в исследуемой пробе (опыт).

Количественная оценка параметра тест-реакции, характеризующего токсическое действие, производится путем расчета соотношения числа клеток инфузорий, наблюдаемых в контрольной и исследуемой пробах, и выражается в виде безразмерной величины – индекса токсичности (Т).

Подготовка к выполнению измерения. *Приготовление взвеси клеток инфузорий и растворов.* Для проведения биологического тестирования используется взвесь клеток инфузорий, отмытая от продуктов метаболизма и корма и доведенная до рабочей концентрации (плотности) 1000±500 кл./см^3.

Среда для культивирования и разбавления: готовится на дистиллированной воде (среда Лозины-Лозинского, в дальнейшем Л-Л). Возможно использование водопроводной воды, которая должна быть соответствующим образом обработана (дехлорировать отстаиванием в течение 5–10 суток).

Для приготовления концентрата среды Л-Л в 1 дм^3 воды растворяют следующие соли: NaCl – 1,0 г, КС1 – 0,1 г, $MgSO_4$ – 0,1 г, $CaC1_2x2H_2O$ – 0,1 г, МаНСОз – 0,2 г. Такой раствор можно хранить в холодильнике до 7 суток.

Для работы используется среда Л-Л, полученная десятикратным разбавлением водой исходного концентрата. Разбавленная среда Л-Л не хранится. Разбавляющая среда и среда для культивирования должны быть идентичны, и обеспечивать выживаемость инфузории в течение 5 суток.

В качестве нейтрального загустителя, разделяющего слои культивационной и анализируемой жидкости используется раствор поливинилового спирта (далее ПВС). Для приготовления раствора берут 0,5 г порошка ПВС и смешивают с 9,5 см^3 среды Л-Л. Смесь нагревают на водяной бане до растворения порошка. Используют раствор в течение суток.

Проведение анализа. В кювету вносят 2,0 см^3 взвеси инфузорий в рабочей концентрации, предварительно проверенной по двум параметрам: по чувствительности к модельному токсиканту и по характеру выхода в разбавляющую среду.

К взвеси добавляют 0,35 мл 5%–ного раствора ПВС, все тщательно перемешивают, непременно увлажнив стенки кюветы, и наслаивают (например, пипеткой) 1,6 см^3 анализируемой жидкости, не допуская перемешивания с нижним слоем.

Через 30 мин (продолжительность тест-реакции) последовательно производят определение концентрации инфузорий в верхней зоне кюветы в контрольных ($I_к$) и опытных ($I_{оп}$) пробах. Контрольные и опытные пробы готовят одновременно.

Измерение концентрации инфузорий производится на приборе «Биотестер 2» (рис. 8.3)

Рис. 8.3. «Биотестер 2» – прибор для определения хемотаксической реакции инфузорий

Работа с прибором:

а) установить режим усреднения «1» (горит светодиод над кнопкой, соседние светодиоды погашены);

б) вставить кювету в кюветную нишу, закрыть крышку, нажать кнопку «пуск»;

в) индикация гаснет, на 12-й с (время автоподстройки) загорается светодиод «отсчет», и еще через 22 с на индикационном табло появляется первое значение концентрации в условных единицах. Выдача отсчета сопровождается световым и звуковым сигналом продолжительностью 2 с;

г) в течение 22 с значение предыдущего отсчета сохраняется, этого времени достаточно для регистрации результата.

Если концентрация токсикантов настолько велика, что инфузории практически не выходят в пробу (показания прибора в условных единицах находятся в пределах 0,00–0,08), то начинает мигать светодиод «тревога». Это означает, что испытуемую пробу необходимо разбавить до получения на приборе значимых величин. (Не забудьте скорректировать оценку токсичности в соответствии со степенью разбавления исходной пробы).

Оценку токсичности пробы производят по относительной разнице количества клеток в верхних зонах кювет в контрольной и анализируемой пробах.

Индекс токсичности (T) определяется как:

$$T = \frac{I_{ср.}\text{контроль} - I_{ср.}\text{опыт}}{I_{ср.}\text{контроль}}, \qquad (8.6)$$

где $I_{ср}$.контроль, $I_{ср}$.опыт – средние показания прибора для контрольных и анализируемых проб, соответственно.

Индекс токсичности T – величина безразмерная и может принимать значения от 0 до 1 в соответствии со степенью токсичности анализируемой пробы.

По величине индекса анализируемые пробы классифицируются по степени их токсичности на 3 группы:

I – допустимая степень токсичности ($0{,}00 < T < 0{,}40$);

II – умеренная степень токсичности ($0{,}41 < T < 0{,}70$);

III – высокая степень токсичности ($T > 0{,}71$).

В случае очень токсичных проб, когда T принимает значение 1 (т.е. когда в верхней зоне кюветы с анализируемой пробой подвижные инфузории не обнаруживаются), индекс токсичности не может однозначно характеризовать истинный уровень токсичности пробы. Пробу следует разбавить до такой сте-

пени, чтобы значение индекса токсичности не достигало 1, и полученное значение T умножить на коэффициент разбавления.

Некоторые пробы могут содержать безопасные, но привлекательные для инфузорий вещества. В таких случаях $I_{ср.}$опыт может даже несколько превышать $I_{ср.}$контроль. Полученные при формальном расчете отрицательные значения индекса токсичности T свидетельствуют об отсутствии токсичности и могут быть оценены как нулевые.

8.2.4.6. Метод клеточного микроэлектрофореза с использованием приборного комплекса «Цито-эксперт»

Технология клеточного микроэлектрофореза основана на оперативном изменении величины, пропорциональной эффективному электрическому заряду живых клеток, а именно амплитуды их колебаний в однородном переменном электрическом поле. Поле создается в электрофоретической камере между графитовыми электродами при подаче на них стабилизированного напряжения с профилем симметричного биполярного меандра, перемещения клеток фиксируются с помощью микроскопа.

Возвратно-поступательные колебания клеток в переменном поле записываются цифровой видеокамерой в память компьютера, затем полученный видеофайл обрабатывается специализированными программами – автоматической NTUComplex (для клеток крови и других дисковидных и сферических клеток) либо полуавтоматической NTUSimple (для всех других видов клеток, пунктатов и биотатов тканей), с автоматической выдачей отчета. В отчете, кроме средней амплитуды, даются численные значения доли подвижных клеток относительно их общего числа, гистограмма распределения клеток по амплитудам, а также значение показателей формы гистограммы (асимметрии и эксцесса).

Длительность одного анализа, включая заправку препарата, видеозапись микроэлектрофореза, ее обработку и формирование отчета, обычно не превышает 5–7 минут, в зависимости от возможностей компьютера, в т.ч. длительность видеозаписи 6–12 секунд. При этом в составе комплекса может использоваться практически любой лабораторный микроскоп.

Приборный комплекс «Цито-эксперт» (рис. 8.4) является модернизированным (и более информативным) функциональным аналогом импортных приборов для измерения электрофоретической подвижности (ЭФП) клеток в постоянном поле.

Расчет величины электрофоретической подвижности клеток.

При выполнении клеточного электрофореза в переменном поле наиболее удобной и наглядной характеристикой эффективного электрического заряда клетки является амплитуда ее колебаний. Это основной параметр МЭФ, во многих случаях обладающий наибольшей информативностью.

Рис. 8.4. Приборный комплекс «Цито-эксперт»

Аппаратное и программное обеспечение комплекса «Цито-эксперт». Для проведения анализов необходим прибор «Цито-экперт», обычный оптический микроскоп, персональный компьютер (частота процессора от 1ГГц, ОЗУ от 26 Мб), объектив – микрометр проходящего света с ценой деления 5–10 мкм и видеокамера. Рекомендуются специализированные для оптической микроскопии цифровые окулярные USB-видеокамеры DCM-130 или WEB-BERSMYScope-130 нижнего ценового диапазона с матрицей 1.3 МПикселя (30 кадров в секунду, 640×480 пикселей, в режиме видео, 16-битный цвет, объектив ×10). Однако при наличии у пользователя удовлетворительного по качеству (частота не ниже 15 fps, разрешение не ниже 640×480 пикселей) оборудования для записи видеофайлов (видеокамеры или цифрового фотоаппарата) его использование является вполне допустимым. Программные средства должны содержать ОС Windows 2000/NT/XP/Vista и MSOffice 2000 + (для создания отчетов).

Рис. 8.5. Электрофоретическая ячейка

Заправка препарата. Перед первой заправкой препарата и после долгого перерыва в работе рекомен-

дуется протереть (без нажима) смоченным спиртом марлевым тампоном рабочую зону и электроды электрофоретической ячейки (рис. 8.5), затем ополоснуть дистиллированной водой и просушить с помощью тепловентилятора либо сухой обеззоленной фильтровальной бумагой (промокнуть без трения).

При использовании обычных покровных стекол необходимо проверять их плоскостность с помощью лупы. Стекло даже с небольшой кривизной (при наблюдении его ребер вдоль поверхности через лупу) для данного анализа непригодно. (В некоторых комплектах отечественных покровных стекол встречается до 30% непригодных). Покровное стекло также нуждается в предварительной очистке перед началом анализов. Для заправки препарата необходимо с помощью дозатора поместить около 40 мкм суспензии клеток в буферном растворе в центр рабочей зоны ячейки между электродами.

Затем надо аккуратно опустить покровное стекло над рабочей зоной оперев его вначале ребром на один из электродов для образования клиновидного зазора между ним и ячейкой, а затем отпустив его. После этого клеточная суспензия распределится на всю площадь рабочей зоны, смочив электроды.

Далее надо убедиться в отсутствии пузырей в рабочей зоне ячейки. Для пробных оценок или аналитического тренинга допускается наличие не более двух пузырей диаметром не более 1 мм вдоль кромок неиспользуемых в анализе электродов. При несоблюдении этого условия (а также для ответственных анализов при наличии даже одного пузыря) надо снять покровное стекло, очистить ячейку и провести заправку заново, ибо пузыри могут исказить результаты измерений.

Если пузырей нет, надо расположить покровное стекло пинцетом симметрично относительно всех электродов и затем осторожно и одновременно прижать края этого стекла к используемой паре электродов для удаления лишней жидкости из рабочей зоны[24].

Классификация объектов.

Принято разделять объекты на три класса:

- *прилипшие* (модуль вектора потока существенно меньше, чем у остальных объектов);
- *неподвижные* (малый модуль вектора амплитуды);
- *подвижные* (все остальные объекты).

Расчет параметров (средняя амплитуда, ее среднее отклонение, асимметрия и эксцесс) проводится только для подвижных объектов, все остальные во внимание не принимаются.

Процентное отношение прилипших и неподвижных объектов также может использоваться в дальнейшем анализе в качестве дополнительных параметров.

---

[24] В случае повышенной температуры и (или) пониженной влажности в помещении, где проводится анализ, допускается набирать в дозатор немного более 40 мкл клеточной суспензии. В этом случае излишки жидкости, располагаясь после прижатия покровного стекла за его краями, обеспечивают смачивание электродов на все время выполнения анализа даже при ускоренном испарении жидкости.

Порядок выполнения анализа:

1) включить исполнительный блок «Цито-эксперт», дать ему прогреться не менее двух минут, установить (или проверить) необходимые значения частоты (0,25 Гц) и напряжения (28 В) на электродах электрофоретической камеры, выбрать (проверить) один из вариантов их коммутации;

2) расположить заправленную электрофоретическую камеру на столике микроскопа так, чтобы объектив находился над центром рабочей зоны, включить освещение микроскопа;

3) сфокусировать объектив микроскопа на препарате до появления четкого изображения клеток крови на дисплее компьютера. Медленное перемещение клеток в поле зрения не помешает проведению адекватного анализа;

4) горизонтальным перемещением столика микроскопа или электрофоретической камеры выбрать подходящее поле зрения в плоскости препарата, не содержащее посторонних включений:

5) подать напряжение на электроды камеры, пронаблюдать 2–3 полных колебания клеток;

6) включить видеокамеру, сделать запись клеточного микроэлектрофореза;

7) если на первом видеофайле зафиксировалось менее 60 клеток, переместить камеру и сделать видеозапись второго (и, при необходимости, 3-го) поля зрения. При последующей обработке видеофайлов результаты, полученные для разных полей зрения одного препарата, могут быть совмещены в одном отчете;

8) выключить напряжение на электродах электрофоретической камеры и освещение микроскопа;

9) для изучения кинетики клеточных процессов может производиться последовательная запись нескольких видеофайлов (серии) с одного поля зрения с перерывами по времени, с отключением или без отключения напряжения на электродах во время этих перерывов. Анализ в таком режиме (серийный анализ), как правило, при нормальных влажности и температуре в помещении может выполняться до 6 минут, затем начинается подсыхание препарата.

Очистка электрофоретической ячейки. После записи всех необходимых видеофайлов ячейка вынимается из держателя камеры, покровное стекло снимается и производится очистка ячейки и стекла марлевым тампоном, смоченным в дистиллированной воде. После этого ячейка и стекло протираются тампоном с хлоргексидином или спиртом, затем ополаскиваются в лотке с дистиллированной водой и просушиваются.

Протирка при мойке и сушке производится без приложения усилия, ибо твердость графитовых электродов не превышает твердости грифеля обычного карандаша. При правильном обращении электроды служат не менее 2 лет.

8.3. ОБРАБОТКА, ОЦЕНКА И ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Обработка результатов биологического тестирования, полученных с использованием любого тест-организма, представляет слбой процедуру нахождения «дозозависимых» параметров влияния среды на жизнедеятельность организмов. Общие принципы и подходы в обработке результатов острой токсичности экотоксикантов детально рассмотрены ранее в главе 6.

8.3.1. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ БИОТЕСТИРОВАНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА РАКООБРАЗНЫХ (ДАФНИИ И ЦЕРИОДАФНИИ)[25]

При определении острой токсичности питьевых, сточных, поверхностных, грунтовых вод, а также водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов и их разбавлений устанавливают:

– среднюю летальную кратность разбавления вод, водных вытяжек, вызывающую гибель 50% тест-объектов ($ЛКР_{50}$);

– безвредную кратность разбавления вод, водных вытяжек, вызывающую гибель не более 10% тест-объектов (БКР)

Для определения острой токсичности исследуемых вод, водной вытяжки рассчитывается процент погибших в тестируемой воде дафний *(A,%)* по сравнению с контролем:

$$A = \frac{|X_k - X_t|}{X_k} \cdot 100\%, \qquad (8.7)$$

где X_k – количество выживших дафний в контроле; X_t – количество выживших дафний в тестируемой воде.

При $A < 10\%$ тестируемая вода или водная вытяжка не оказывает острого токсического действия (безвредная кратность разбавления). При $A > 50\%$ тестируемая вода, водная вытяжка оказывает острое токсическое действие (средняя летальная кратность разбавления).

Если экспериментально не удалось получить точного значения кратности разбавления, вызывающей 50%-ную гибель тест-организмов, то для получения точного значения $ЛКР_{50–96}$ без выполнения дополнительных экспериментов, используется графический или расчётный метод определения.

---

[25] ФР.1.39.2007.03222 Биологические методы контроля. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний.

ФР.1.39.2007.03221 Биологические методы контроля. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний.

Графический метод определения ЛКР$_{50}$. Количественный анализ экспериментальных данных, основанный на изучении зависимости между логарифмами испытанных в эксперименте доз (концентраций) и пробитами, соответствующими наблюдавшимся эффектам, носит название пробит-анализа.

Чтобы получить на графике линейную зависимость, используется пробит-анализ. Результаты экспериментов по установлению острого токсического действия из рабочего журнала заносят в табл. 8.4[26]. Значения пробитов устанавливают по табл. 8.5, в которой можно найти значение пробита, соответствующее любой частоте эффекта, выраженной в процентах.

В табл. 8.6 вносят значения пробитов для экспериментально установленного процента гибели дафний и значения десятичных логарифмов для исследованных концентраций сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов.

По значениям пробитов (табл. 8.5) и десятичных логарифмов от экспериментально полученных данных (табл. 8.4) строится график. По оси абсцисс откладываются значения логарифмов концентраций исследуемых вод, выраженных в процентах, по оси ординат – пробиты значений процента гибели дафний. Экспериментально полученные значения наносятся на график и по ним строится зависимость гибели тест-организмов от концентрации исследуемого раствора. Как правило, точки, нанесённые на график на основе данных эксперимента, не лежат строго по прямой линии. Прямая должна быть проведена так, чтобы она по возможности лучше соответствовала этим точкам. При этом надо считаться с тем обстоятельством, что экспериментальные точки имеют тем больший «вес», чем ближе они располагаются к значению пробита, равному 5; точки, расположенные на уровне пробитов 4 и 6; имеют «вес», равный приблизительно 2/3, а точки, расположенные на уровне пробитов 3 и 7, – равный приблизительно 1/5 «веса» точек, пробит которых близок к 5.

Таблица 8.4

Форма записи результатов определения острой токсичности сточной воды

Дата, время, место отбора пробы	Исследуемая концентрация сточной воды, %	Время от начала биотестирования	Количество выживших дафний (ср. арифм. по параллельным сериям)		Смертность дафний в опыте, в % к контролю	Оценка качества водной среды	
			в контроле	в опыте		ЛКР$_{50–96}$	БКР$_{96}$
16.05.2001, возвратные воды АО «Сорбент»	1 5 10 25 50	Через 96 ч	30 30 30 30 30	29 27 12 6 2	3 10 60 80 93	9,52 или 10,5% концентрация раствора	39,84 или 2,51% концентрация раствора

[26] В качестве примера рассмотрим результататы биологического тестирования возвратных вод ОАО «Сорбент».

Таблица 8.5

Значения пробитов для экспериментально устанавливаемой гибели дафний от 0% до 99%

Гибель, %	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	–	2,67	2,95	3,12	3,25	3,35	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,83	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,40	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33

Таблица 8.6

Значения десятичных логарифмов для исследованных концентраций сточных вод и пробитное значение от экспериментально установленного процента гибели дафний

Концентрация сточных вод (С), %	Десятичный логарифм концентрации (lgC)	Количество погибших дафний, %	Значения пробитов для % гибели
1	0	3	3,12
5	0,6989	10	3,72
10	1,0000	60	5,25
25	1,3980	80	5,84
50	1,6990	93	6,48

По окончании построения графика на оси абсцисс находят значение концентрации для той точки на проведённой прямой, которой соответствует величина пробита, равная 5. Эта концентрация будет соответствовать $ЛКР_{50}$. Далее логарифм концентрации переводят в процентную концентрацию.

Для упрощения нахождения точных значений необходимых величин график и расчёт коэффициентов линейного тренда можно осуществить в программе Excel (пакет Microsoft Office). Поэтапное выполнение процедуры нахождения $ЛКР_{50}$ и БКР выглядит следующим образом.

1. Набираем в программе Excel два столбца – логарифм анализируемых концентраций и соответствующий им полученный эффект гибели организмов, выраженный в пробитах (строка 2 и 4 табл. 8.6).

2. Выделяем колонки набранных цифр.

3. В режиме «Вставка» выбираем «диаграмму» – точечная (особенно следует обратить внимание на запись дробных значений, целые числа от десятичных должны отделяться точкой, а не запятой).

4. Наводим курсор мышки на точки графика, нажимаем правую клавишу мышки, на диалоговом окне выбираем «Добавить линию тренда».

5. В открывшемся диалоговом окне «Параметры тренды» выделяем следующие позиции:

«Линейная»;

«показывать уравнение на диаграмме»;

«поместить на диаграмму величину достоверности аппроксимации».

В результате получаем следующий график (рис. 8.6).

Рис. 8.6. Линейная зависимость гибели дафний в пробитах от логарифма концентраций исследуемых сточных вод

6. С помощью коэффициента детерминации R^2 анализируем достоверность полученного тренда. Приближение считается хорошим при R^2 больше 0,9. Если $R^2 = 1$, то это означает полное совпадение прогнозируемых и фактических данных.

Из полученного уравнения линии тренда получаем значения величин $x = \lg[C]$, соответствующие величинам y (значениям пробитов).

Значение пробита 5,0 соответствует логарифму концентрации исследуемой воды 1,02, вызывающей гибель 50% тест-организмов. Логарифм процентной концентрации переводится в процентную концентрацию: $\lg C_{50}=1{,}02$ соответствует процентной концентрации 10,5%.

Таким образом, устанавливается, что 10,5%-ная концентрация исследуемой сточной воды, или разбавление в 9,52 раза (100% / 10,5%), вызывает 50%-ную гибель тест-объектов за 96 часов[27] ($ЛКР_{50}$ = 9,52). Подобным же образом устанавливаются кратности разбавления вод, соответствующие 10 и 20% гибели тест-организмов.

Все полученные расчеты, график по результатам острого эксперимента вносят в рабочий журнал.

Расчётный метод определения $ЛКР_{50–96}$. Десятичный логарифм концентрации исследуемых сточных вод ($\lg[C]$ обозначим x, а численные значения

[27] 96 часов для дафний или 48 часов для цериодафний.

гибели тест-организмов, выраженное в пробитах – y. Учитываются только те значения $lg[C]$, при которых наблюдается смертность. В результате испытаний получено n пар чисел:

$$(x_1 y_1), (x_2 y_2) \ldots (x_n y_n),$$

по которым определяется линейная зависимость:

$$y = kx + b. \tag{8.8}$$

Численные значения коэффициентов k и b вычисляются по формулам:

$$k = \frac{n\sum_{i=1}^{n} x_i y_i - \sum_{i=1}^{n} x_i \sum_{i=1}^{n} y_i}{n\sum_{i=1}^{n} x_i^2 - (\sum_{i=1}^{n} x_i)^2}; \tag{8.9}$$

$$b = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i^2 \cdot \sum_{i=1}^{n} y_i - \sum_{i=1}^{n} x_i \cdot \sum_{i=1}^{n} x_i y_i}{n\sum_{i=1}^{n} x_i^2 - (\sum_{i=1}^{n} x_i)^2}. \tag{8.10}$$

Для вычисления k и b используется расчетная табл. 8.7. В первом столбце таблицы помещаются отобранные значения x_i (десятичный логарифм концентрации $\lg[C]$), в третьем – соответствующие им значения пробитов, четвертый и пятый столбцы рассчитываются.

Вычисляются искомые параметры k и b при $n = 5$:

$$k = \frac{5 \cdot 27,02 - 4,80 \cdot 24,41}{5 \cdot 6,33 - (4,80)^2} = 2,08, \quad b = \frac{6,33 \cdot 24,41 - 4,80 \cdot 27,02}{5 \cdot 6,33 - (4,80)^2} = 2,88.$$

Искомое уравнение регрессии: $y = 2,08\,x + 2,88$.

Таблица 8.7

Расчётная таблица

x_i	**Величина тест-параметра, %**	y_i	x_i^2	$x_i y_i$
1	2	3	4	5
0	3	3,12	0	0
0,6989	10	3,72	0,49	2,6
1,0000	60	5,25	1	5,25
1,3980	80	5,84	1,95	8,16
1,6990	93	6,48	2,89	11,01
$\sum_{i=1}^{5} x_i = 4,80$		$\sum_{i=1}^{5} y_i = 24,41$	$\sum_{i=1}^{5} x_i^2 = 6,33$	$\sum_{i=1}^{5} x_i y_i = 27,02$

Вычисляются искомые параметры k и b при $n = 5$:

$$k = \frac{5 \cdot 27,02 - 4,80 \cdot 24,41}{5 \cdot 6,33 - (4,80)^2} = 2,08, \quad b = \frac{6,33 \cdot 24,41 - 4,80 \cdot 27,02}{5 \cdot 6,33 - (4,80)^2} = 2,88.$$

Искомое уравнение регрессии: $y = 2,08x + 2,88$.

Определяется значение x, соответствующее 50%-ной гибели дафний ($y = 5$), по формуле:

$$x = \frac{y - b}{k}, \quad x = \frac{5 - 2,88}{2,08} = 1,019. \qquad (8.11)$$

Полученный логарифм процентной концентрации исследуемой воды переводится в процентную концентрацию $\lg C_{50} = 1,019$, что соответствует процентной концентрации 10,44%.

Таким образом, устанавливается, что 10,44%-ная концентрация исследуемой сточной воды, или разбавление в 9,58 раза (100%/10,44%), вызывает 50%-ную гибель тест-объектов за 96 часов ($ЛКР_{50} = 9,58$).

Все полученные значения, расчеты и график по результатам острого эксперимента вносят в рабочий журнал.

8.3.2. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ БИОТЕСТИРОВАНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ВОДОРОСЛЯХ[28]

При определении острой токсичности питьевых, сточных, поверхностных, грунтовых вод, а также водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов и их разбавлений устанавливают:

– ингибирующую концентрацию отдельных веществ ($ИК_{50–96}$) или ингибирующую кратность разбавления ($ИКР_{50–96}$) вод, водных вытяжек, вызывающую 50%-ное подавление флюоресценции хлорофилла и 50%-ное снижение численности клеток водорослей за 96-часовую экспозицию;

– безвредную кратность разбавления вод, водных вытяжек, вызывающую 20%-ное подавление флуоресценции хлорофилла и не более чем 20%-ное снижение численности клеток водорослей за 96-часовую экспозицию – $БКР_{20–96}$.

При определении острого токсического действия для каждого разведения по результатам трех параллельных определений вычисляют среднее значение уровня флуоресценции или среднее значение численности клеток по формуле:

$$\overline{X} = \frac{\sum_{i=1}^{n} X_i}{n}, \qquad (8.12)$$

[28] ФР.1.39.2007.03223 Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей.

где $\overline{X}$ – среднее значение тест-параметра (уровня флуоресценции или численности клеток); X_i – значения тест-параметра в i–м параллельном определении; n – количество параллельных определений.

Рассчитывают относительное (в %) изменение уровня флуоресценции или численности клеток водорослей для каждого разведения по сравнению с контролем (I):

$$I = \frac{\left|\overline{X}_k - \overline{X}_o\right|}{\overline{X}_k} \cdot 100\%, \qquad (8.13)$$

где $\overline{X}_k$ – среднее значение тест–параметра в контроле, $\overline{X}_0$ – среднее значение тест-параметра в опыте.

Характеристики степени токсичности испытуемой воды приведены в табл. 8.8.

Таблица 8.8

Характеристика степени токсичности испытуемых вод

Отклонение от контроля, %	Характер токсического действия
До 20	Отсутствие токсического действия
От 50 и более	Наличие острой токсичности

Стимуляция (противоположная угнетению реакция тест-объектов на воздействие токсикантов) до уровня 30% по сравнению с контролем признаётся как нетоксичное действие испытуемой воды на тест-объект. При стимуляции более 30% вода, водная вытяжка из почв, отходов признается токсичной, если в хроническом опыте на дафниях или цериодафниях выявляется увеличение плодовитости рачков более чем на 30% в тестируемой воде вытяжки по сравнению с контролем.

Если экспериментально не удалось получить точного значения кратности разбавления, вызывающей 50%-ное ингибирование водорослей за 72-часовую экспозицию, то для получения точного значения $ИКР_{50–72}$ без выполнения дополнительных экспериментов, используется графический или расчётный метод определения, указанный выше при расчёте результатов биологического тестирования дафниевого теста.

8.3.3. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЛЕКСА «ЦИТО-ЭКСПЕРТ»

Автоматическая обработка записанных видеофайлов с помощью программного пакета NTUComplex, использующегося при работе с комплексом «Цито-эксперт» может производиться сразу после их записи либо в удобное для пользователя время, при этом существует возможность их обработки в фоновом режиме компьютера. По завершении обработки генерируется отчет, в котором, кроме таблицы амплитуд колебаний для каждой распознанной клетки, приводятся следующие электрокинетические параметры для всей клеточной популяции (Руководство пользователя пакета программ NTUComplex):

– среднее значение амплитуды колебаний и ее отклонения;
– доля подвижных клеток относительно общего количества клеток;
– гистограмма распределения клеток по амплитудам (график);
– асимметрия гистограммы (численный показатель ее симметричности);
– эксцесс гистограммы (численный показатель ее пирамидальности)
– параметры микротечения в препарате, если оно было во время видеозаписи.

Непосредственно после обработки полный отчет либо гистограмма с диаграммой доли подвижных клеток могут быть распечатаны на принтере.

Алгоритм расчета комплекса «Цито-эксперт». Версия программы реализует алгоритм раздельного подсчета по трем точкам поворота векторов амплитуды колебаний жидкости для каждого исследуемого объекта.

Основным критерием корректности электрофоретических изменений является учет или исключение ошибок измерений, вносимых различного рода течениями жидкости в рабочей области ячейки. Течение жидкости может вызваться температурным градиентом, восстановлением водорода на электродах, вибрациями и т.д. Под микроскопом подобного рода течения хорошо видны при отключенном электрическом поле. До сих пор для устранения данной ошибки предлагались лишь методические способы, т.е. ожидание прекращений перемещения объектов перед проведением микроэлектрофореза. Увеличивая время анализа, данный способ не способен обеспечить приемлемого и достоверного уровня ошибки измерений. Для устранения тепловых потоков предусматривалось обязательное термостатирование зоны, газовыделение на электродах предотвращалось с помощью подбора материала электродов. Применение описанных методов даёт для однородных суспензий среднюю ошибку измерений порядка 5–7%.

Реализуемый по программе алгоритм расчета индивидуален к каждому исследуемому объекту и требует данных о перемещении объекта в течение одного периода колебаний.

В качестве примера рассмотрим результаты биологического тестирования с использованием комплекса «Цито-эксперт» влияния на одноклеточные водоросли Chlorella vulgaris сульфата меди в концентрации 0,01 мг/л.

В ходе проведения анализа было выявлено (рис. 8.9), что средняя амплитуда подвижных клеток в контроле составила: 7,92 ± 0,98 мкм, а средняя амплитуда подвижных клеток, подверженных сульфату меди, 7,62 ± 1,16 мкм. Данная работа проводилась при одинаковых условиях к оборудованию и составила следующие параметры:

Доверительная вероятность: 0,9
Размер пикселя: 0,34 мкм
Частота: 0,25 Гц
Напряжение: 28,0 В

Рис. 8.9. Результаты тестирования влияния сульфата меди (0,01 мг/л) на одноклеточные водоросли в программном пакете NTUComplex

Рассчитываем токсичность пробы по формуле:

$$T = \frac{A_к - A_{оп}}{A_к} \cdot 100\%, \qquad (8.14)$$

где T – токсичность (ингибирование) в %, $A_к$ – амплитуда клеток в контроле, $A_{оп}$ – амплитуда клеток в опыте.

Получаем $T = (7,92 - 7,62)/7,92 \cdot 100\% = 3,88\%$.

Менее 4% снижения амплитуды клеток водорослей в опыте свидетельствует о том, что концентрация меди 0,01 мг/л незначительно влияет на жизнедеятельность клеток водорослей.

ЧАСТЬ III

ПРИНЦИПЫ РЕГЛАМЕНТИРОВАНИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Глава **9. Принципы обоснования ПДК загрязняющих веществ в воздухе рабочей зоны**

Глава **10. Принципы обоснования ПДК загрязняющих веществ в воздухе атмосферы населённых пунктов**

Глава **11. Принципы обоснования ПДК загрязняющих веществ в поверхностных водах**

Глава **12. Принципы обоснования ПДК загрязняющих веществ в водных объектах рыбохозяйственного назначения**

Глава **13. Принципы обоснования НДВ по привносу химических и взвешенных минеральных веществ в поверхностные водные объекты**

Глава **14. Принципы обоснования ПДК загрязняющих веществ в почве**

Глава **15. Принципы обоснования ПДК промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы**

Глава **16. Принципы и проблемы экологического нормирования антропогенной нагрузки загрязняющими веществами**

ВВЕДЕНИЕ

Если методы токсикометрии отвечают на вопрос о количестве вредного химического вещества, оказывающего токсический (т.е. повреждающий) эффект на биосистемы, то решение задач обеспечения безопасности населения и объектов окружающей природной среды от химической агрессии базируется на концепции ПДК (предельно допустимых концентраций) экотоксикантов, не оказывающих вредного воздействия на живые организмы, включая человека. Несмотря на длительную историю разработки концепции ПДК в нашей стране, до сих пор идут дебаты о соотношении санитарно-гигиенических и экологических подходов в регламентировании загрязнения объектов окружающей среды, которые усугубляются ведомственными (Минздрав и Минприроды) разночтениями. Все это отнюдь не облегчает изучение вопроса, но, тем не менее, современный токсиколог должен владеть базовыми принципами обоснования ПДК загрязняющих веществ в воздушной среде (воздух рабочей зоны и воздух атмосферы населенных пунктов), водной среде (включая нормативы допустимого воздействия, НДВ) и почве. Приоритетным направлением в области оценки опасности химических веществ было и остается гигиеническое нормирование, к которому в последнее время добавились экологические нормы. По данным Б.А Курляндского (2004) – директора Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ МЗ РФ, – всего в нашей стране разработано около 7000 нормативов допустимого содержания для более 2000 вредных веществ в различных средах. Однако их практическое использование весьма низкое. Так, в воздухе рабочей зоны определяется не более 200 веществ, в атмосферном воздухе около 100 веществ, в воде водоемов – 60, в почве – около 30 веществ. Из 409 зарегистрированных в России пестицидов контроль ведется за 131. В системе мониторинга Росгидромета определяется 30 веществ. Другими словами, более 75% разработанных к настоящему времени ПДК и ОБУВ практически не используются. К этому следует добавить, что профессиональные болезни, вызываемые химическими веществами, в нашей стране обусловлены всего лишь 163 веществами, из которых только 19 соединений не имеют утвержденных государственных нормативов. Следует подчеркнуть, что из 2000 фактически применяемых в России химических веществ, профессиональные заболевания, как правило, вызываются сравнительно небольшим числом соединений, для которых разработаны ПДК.

Основные критерии, которыми руководствуются при принятии решения об уровне гигиенического регламентирования вещества, сводятся к следующим. На *первом этапе* регламентирования осуществляется сбор информации для решения вопроса об объеме сведений, необходимом и достаточном для заключения о безопасности производства и применения вещества. На *втором этапе*[29] на основании анализа полученной информации определяются вещества, не нуждающиеся в разработке гигиенических нормативов в соответствии

[29] Требования к выполнению второго и третьего этапа будут рассмотрены в соответствующих главах.

с предложенными критериями. Это очень важный момент, так как этим *легализуется* производство и *применение вещества без норматива*, а только на основе достаточности информации о его безопасности. На *третьем этапе* определяются очередность и объем исследований, необходимых для ускоренного обоснования гигиенических нормативов в тех случаях, когда это позволяют свойства вещества и условия его обращения. И, наконец, на *четвертом этапе* принимается решение о необходимости разработки гигиенического норматива для приоритетного вещества на основе результатов планируемых токсико-гигиенических и экологических исследований в соответствии с утвержденными методическими указаниями. При наличии официальных отечественных либо зарубежных данных об опасных свойствах химических веществ и количественных параметрах их опасности, возможно использование этих сведений для принятия решения о необходимости и приоритетности гигиенического и экологического нормирования.

В случае принятия решения о необходимости гигиенического нормирования химического вещества нужна информация об области применения вещества, объемах производства и способах применения. Также необходимы сведения о выбросах в атмосферу и сбросах в воду водных объектов, как для отдельного предприятия, так и по стране в целом. Указывается форма выпуска вещества. Далее приводятся сведения о строении вещества: структурная формула и молекулярная (атомная) масса. Необходимо привести физико-химические показатели**:** агрегатное состояние (при 20°C, 760 мм рт. ст.); точка кипения; точка плавления; упругость паров при 20°C; плотность; растворимость в воде, жирах и других средах; pH. Указывается влияние вещества на запах и окраску объектов окружающей среды. Приводятся сведения о реакционной способности, стабильности, трансформации в объектах окружающей среды. Необходимы показатели токсикометрии: острая токсичность при введении в желудок (DL_{50}), при аппликации на кожу (DL_{50}), при ингаляции (CL_{50}), показатели кумулятивности. Кроме того, приводятся сведения о раздражающем действии на кожу и глаза, кожно-резорбтивном действии, сенсибилизирующем действии (кожно-аллергические реакции). Необходимым и важным элементом являются сведения об отдаленных последствиях действия вещества: эмбриотропном, гонадотропном, тератогенном, мутагенном и канцерогенном.

Таким образом, несмотря на сложившуюся практику применения санитарно-гигиенических и экологических нормативов, параметры токсикометрии и ПДК остаются необходимым инструментом регламентирования содержания вредных веществ в объектах производственной и окружающий среды. Экспериментальное обоснование ПДК является сложной, трудоемкой и дорогостоящей процедурой, требующей не только специально оснащенной лаборатории, но и высококвалифицированного персонала. Подробное изложение методических подходов к обоснованию ПДК далеко выходит за рамки университетского курса, поэтому мы ограничимся изложением принципиальных подходов к этой процедуре, отсылая читателя при необходимости к соответствующим руководствам и методическим указаниям. Эти документы ориентированы на подготовленных специалистов, достаточно объемны и отличаются своеобразной лексикой. В связи с этим обстоятельством основной задачей

было их адаптирование для восприятия (а скорее первого знакомства) учащимися, что потребовало в первую очередь их сокращения, при этом мы старались максимально сохранить стиль изложения, с которым будущим специалистам придется сталкиваться в практической деятельности.

Отметим, что большая востребованность промышленной токсикологии в начале XX века в связи с интенсивной индустриализацией обусловила приоритетное создание и внедрение гигиенических регламентов содержания вредных веществ, в основном, в условиях производства. Поэтому знакомство с основной терминологией и алгоритмами обоснования нормативов содержания вредных веществ целесообразно начать с воздуха рабочей зоны.

Глава 9

ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

Все химические вещества, предназначенные для использования в быту или применения на производстве, подлежат обязательному прохождению токсикологической оценки, полнота которой зависит от предполагаемых объемов их производства, контакта с ними людей, степени опасности веществ, а также актуальности (приоритетности), обоснованной в установленном порядке. При современных технологиях практически невозможно избежать поступления в воздух рабочей зоны производственных помещений вредных веществ. Приведем формулировки некоторых определений, которые потребуются в дальнейшем.

Производственные помещения – это замкнутые пространства в специально предназначенных зданиях и сооружениях, в которых постоянно (по сменам) или периодически (в течение рабочего дня) осуществляется трудовая деятельность людей. Следовательно, в производственных помещениях находятся рабочие места, которые подразделяются на две группы. Во-первых, это *постоянное рабочее место*, т.е. место, на котором работающий человек находится большую часть своего рабочего времени (более 50% или более 2 ч. непрерывно). Если при этом работа осуществляется в различных пунктах рабочей зоны, постоянным рабочим местом считается вся рабочая зона. Кроме того, выделяют *непостоянное рабочее место* – это место, на котором работающий человек находится меньшую часть (менее 50% или менее 2 ч. непрерывно) своего рабочего времени. Рабочие места характеризуются *рабочей зоной* – пространством высотой до 2 м над уровнем пола или площадки, на котором находятся места постоянного или временного пребывания работающих. Наконец, в рабочей зоне человек может контактировать с *вредным веществом,* которое при контакте с организмом человека, в случае нарушения требований безопасности, может вызвать производственные травмы, профессиональные заболевания или отклонения в состоянии здоровья, обнаруживаемые современными методами, как в процессе работы, так и в отдаленные сроки жизни настоящего и последующего поколений.

В настоящее время предусмотрено три вида санитарного ограничения содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны:

1) *ориентировочные безопасные уровни воздействия* (ОБУВ);

2) *предельно допустимые концентрации* (ПДК);

3) *тесты экспозиции.*

Гигиеническое нормирование вредных веществ в воздухе рабочей зоны, как правило, ведется в три этапа. На *первом этапе* дается обоснование ОБУВ. Первый этап приурочивается к периоду лабораторной разработки новых химических соединений.

На *втором этапе* разрабатываются и обосновываются ПДК новых вредных веществ. Второй этап приурочен к периоду полузаводских испытаний и проектирования производств. Полузаводская установка представляет собой последний этап подготовки производства. Данные, полученные в процессе ее эксплуатации, служат для проектирования промышленного объекта. Полузаводские установки создаются для отработки аппаратурно-технологической части процесса. В процессе проработки на полузаводской установке проверяется математическая модель химического процесса в условиях, соизмеримых с промышленными (мощность полузаводской установки составляет в среднем 1–10% мощности промышленной и зависит от потребной величины опытной партии); нарабатывается опытная партия новой продукции; изучаются вопросы экономики и организации нового производства. Главная задача на этом этапе – получение данных для составления технического задания на проектирование нового производства (именно здесь проводится основная масса исследований по технологическому регламенту будущего процесса) и по проектированию опытно-промышленной установки. Преимущество полузаводских установок состоит в возможности проводить весьма широкий круг технологических и экономических исследований с относительно небольшими затратами. Однако разработка процесса не может быть закончена на полузаводской установке, поскольку с увеличением мощности при переходе к промышленным масштабам возможно появление таких факторов, влияющих на ход процесса, которые не могли быть выявлены на полузаводской установке; некоторые предположения могут не подтвердиться; риск, таким образом, слишком велик.

Наконец, на *третьем этапе* производится корректировка ПДК путем сравнения условий труда работающих и их здоровья. Третий этап выполняется после внедрения веществ в производство в сроки, установленные в зависимости от токсикологической характеристики вещества и гигиенической характеристики производства. На этом этапе изучается состояние здоровья работающих людей до начала работы (контакта) с нормируемым вредным веществом. С этой целью проводятся исследования в условиях воздействия на работающих вредного вещества, концентрация которого в воздухе рабочей зоны находится на уровне установленной ПДК. Обычно такие исследования проводят в течение первых трех лет. Если обнаруживаются первые симптомы неблагоприятного действия промышленного яда, то установленная ПДК ужесточается (снижается). Если состояние здоровья работающих людей не ухудшается, считается, что ПДК обоснована правильно. После апробации или коррекции ПДК утверждается в установленном порядке в качестве санитарного норматива и после этого становится обязательной к соблюдению на всей территории РФ всеми руководителями промышленных предприятий, учреждений

и отдельными лицами. Отметим, что концепция ПДК допускает возможность поступления вредных химических веществ в воздух рабочей зоны и далее в атмосферный воздух. Альтернативой этой концепции является практически нереалистичное в настоящее время требование полного исключения поступления вредных веществ в воздух рабочей зоны, что потребовало бы запредельных затрат на создание соответствующих технологий.

9.1. ПОРОГ ДЕЙСТВИЯ ВРЕДНОГО ВЕЩЕСТВА

Основным принципом для установления ПДК (ОБУВ) является принцип пороговости вредного действия химического вещества. *Порог действия вредного веществ*а – это такая минимальная концентрация его в объекте внешней среды, при воздействии которой в организме (при конкретных условиях поступления вещества) возникают изменения, выходящие за пределы физиологических приспособительных реакций, или скрытая (временно компенсированная) патология. В связи с этим полезно привести определения понятий *адаптация* и *компенсация* в контексте токсикологических исследований.

Адаптация – это приспособление организма к изменяющимися условиям окружающей среды (особенно химическим), которое происходит без каких-либо необратимых нарушений данной биосистемы и без превышения нормальных (гомеостатических) способностей ее реагирования, т.е. когда после определенного периода воздействия реакция на токсические вещества (обычно имеющие низкую концентрацию) полностью или навсегда исчезает и не может быть обнаружена с помощью различных функциональных нагрузок или дополнительных широких исследований.

В свою очередь, *компенсация* – это приспособление организма к изменяющимся условиям среды (особенно химическим) обусловленное возникновением стрессов в биосистеме, которые превышают пределы обычных гомеостатических возможностей. Компенсация является временно скрытой патологией, которая со временем может обнаруживаться в виде явных патологических изменений (декомпенсация).

Порог вредного действия химического вещества характеризуется следующими признаками.

1. Изменения регистрируемых показателей у животных экспериментальной группы ($\bar{X}_э$) статистически значимо ($p < 0{,}05$) отличаются от аналогичных показателей животных контрольной группы ($\bar{X}_k$) и выходят за пределы физиологических колебаний среднегрупповых показателей контроля.

$$\left|\bar{X}_k - \bar{X}_э\right| > 2\sigma_k . \qquad (9.1)$$

2. Статистически значимых изменений по сравнению с контролем нет ($p > 0{,}05$), но наблюдаются скрытые нарушения равновесия с внешней средой (сужение возможностей адаптации), выявляемые, в частности, при помощи адекватных по силе и направленности действия нагрузочных тестов и функ-

циональных нагрузок (реакции выходят за пределы $\pm 2\sigma_k$ соответствующего контроля).

3. Изменения у животных экспериментальной группы статистически значимо ($p < 0{,}05$) отличаются от контроля и находятся в пределах физиологической нормы $\pm 2\sigma_k$, однако стойко сохраняются в хроническом эксперименте и не восстанавливаются в течение более 1 месяца после окончания воздействия вредного вещества.

Задачей исследований является изучение хронической интоксикации и выявление минимальной (пороговой) концентрации, вызывающей гигиенически значимые изменения интегральных или специфических показателей при хроническом отравлении. Опыты проводятся на белых крысах, а при выраженных различиях видовой чувствительности и на более чувствительном виде животных. Схема эксперимента: экспозиция при ингаляционной затравке по 4 часа в день, 5 раз в неделю на протяжении 4 месяцев. Выбор концентраций в хроническом эксперименте должен основываться на знании свойств вещества (быстрое обезвреживание или способность к кумуляции и др.), а также на данных о сравнительной токсичности близких по строению и характеру действия соединений. Исследуются вещества в 2–3 концентрациях с установлением пороговой и недействующей. В том случае, если в течение первых месяцев развиваются патологические изменения, затравка может быть прекращена. Должны быть указаны средняя взвешенная концентрация в каждой камере, ее стандартное отклонение, ошибка, коэффициент вариабельности и т.д. Исследование хронического действия проводится на одинаковых по количеству подопытных группах с соответствующим контролем. Группы должны быть равноценны по основным показателям. Подопытные и контрольные группы определяются методом случайной выборки (жеребьевкой). Должен быть применен комплекс функциональных, биохимических, морфологических (желательно морфометрических) и гистологических, а также токсикокинетических и др. показателей, связанных с типом действия химического вещества. Возможно исследование нескольких показателей на одной и той же группе в том случае, если снятие одного показателя не влияет на результаты другого. После применения экстремальных нагрузок животные из эксперимента выводятся. В течение хронического опыта исследования состояния животных проводятся в динамике. Первое обследование должно проводиться через 1–2 недели (но не после выходного дня). Дальнейшие обследования проводятся ежемесячно. По окончании хронического эксперимента часть подопытных и контрольных животных забивается для гистологического исследования. На оставшихся в живых животных прослеживается восстановительный период (не менее 1 месяца).

9.2. ОРИЕНТИРОВОЧНЫЙ БЕЗОПАСНЫЙ УРОВЕНЬ ВОЗДЕЙСТВИЯ[30]

Ориентировочный безопасный уровень воздействия (ОБУВ) – временный ориентировочный гигиенической норматив содержания вредных веществ в различных средах. Обоснование ОБУВ производится по расчетным формулам на основании параметров токсикометрии и физико-химических свойств вредных веществ, а также с помощью интерполяций и экстраполяций в рядах соединений, близких по химической структуре, физическим и химическим свойствам и характеру биологического действия.

ОБУВ для воздуха рабочей зоны устанавливаются на период, предшествующий проектированию производства. Одновременно с разработкой ОБУВ разрабатывается метод контроля этого вещества в воздухе с чувствительностью не хуже 0,5 значения ОБУВ.

Выбор способа установления ОБУВ производится в зависимости от степени изученности вещества и принадлежности к химической группе. Для обоснования расчета ОБУВ в воздухе рабочей зоны необходимы следующие исходные данные:

1) средняя смертельная доза при введении в желудок, DL_{50}, мг/кг;

2) средняя смертельная концентрация в воздухе, CL_{50}, мг/м^3 (при наличии возможности);

3) порог острого действия, Lim^2_{ac};

4) коэффициент кумуляции, $K_{кум}$ (установленной по методу Ю.С. Кагана и В.В. Станкевича или по методу Lim et al.)

5) действие на кожу и слизистые оболочки;

6) кожно-резорбтивное действие (пробирочный метод).

Возможно обоснование ОБУВ при определении не всех указанных в токсикологическом плане классам химических соединений.

ОБУВ не устанавливается, если вещество относится, во-первых, к гомологическому ряду, представители которого имеют утвержденную в законодательном порядке величину ПДК для воздуха рабочей зоны; во-вторых – к изученному классу химических соединений с известным механизмом действия; в-третьих, имеют установленные в законодательном порядке санитарные нормативы в атмосфере населенных мест или в воде водоемов санитарно–бытового водопользования по токсикологическому признаку вредности.

ОБУВ не устанавливаются для веществ, опасных в плане развития отдаленных и необратимых эффектов, а также для веществ, подлежащих широкому внедрению в практику. Под «широким внедрением» понимается наличие контакта с контингентами работавших, количество которых составляет не менее 80 человек.

При вычислении среднего значения ОБУВ его величина представляется в виде среднего геометрического значений ОБУВ, рассчитанных по отдельным уравнениям. Такие уравнения регрессии, связывающие логарифм величины ОБУВ с логарифмами значений параметров токсикометрии, разработаны для многих групп химических соединений, например, для органических веществ,

---

[30] МУ № 4000–85.

присутствующих в воздухе в виде паров, или для органических веществ, присутствующих в воздухе в виде аэрозолей или их смеси с парами, либо органических веществ, обладающих общетоксическим действием и т.д. Принимая во внимание достаточно большой разброс значений, получаемых с помощью разных уравнений для одного и того же химического соединения, рекомендуется использовать при расчетах максимально большое число имеющихся уравнений, чтобы наиболее полно учесть параметры токсикометрии, включенные в эти уравнения.

В качестве примера приведем уравнения расчета ОБУВ для органических веществ, присутствующих в воздухе в виде паров

$$\lg\text{ОБУВ}_1 = 0,51\ \lg Lim_{ac} + 0,49\ \lg CL_{50} - 0,83; \tag{9.2}$$

$$\lg\text{ОБУВ}_2 = 0,49\ \lg DL_{50} + 0,63\ \lg Lim_{ac} - 2,29; \tag{9.3}$$

$$\lg\text{ОБУВ}_3 = 0,39\ \lg Lim_{ac} + 0,41\ \lg CL_{50} + 0,36\ \lg DL_{50} - 2,61. \tag{9.4}$$

Среднее геометрическое значение величины $\overline{\lg\text{ОБУВ}}$ рассчитывается по следующему уравнению:

$$\overline{\lg\text{ОБУВ}} = (\lg\text{ОБУВ}_1 + \lg\text{ОБУВ}_2 + \lg\text{ОБУВ}_3)/3\,. \tag{9.5}$$

По значению $\overline{\lg\text{ОБУВ}}$ путем потенцирования находим величину:

$$\text{ОБУВ} = 10^{\overline{\lg\text{ОБУВ}}}\,. \tag{9.6}$$

Одновременно целесообразно провести расчеты ОБУВ, для ранее нормированных соединений, что позволяет подтвердить обоснованность прогнозов. В случае значительных расхождений величин ОБУВ, рассчитанных по отдельным уравнениям, или «выпадении» полученной величины из ряда нормированных соединений исследуемого гомологического ряда, целесообразно привлечение дополнительных расчетов, основанных на определении порогов с помощью метода фракционного голодания или использования митохондриальной тест-системы. При выборе окончательного значения ОБУВ, следует учитывать все имеющиеся сведения о токсических свойствах изучаемого вещества (прогнозируемые величины, аналогия с ранее нормированными соединениями, особенности токсического действия).

Значения ОБУВ должны пересматриваться через 2 года после утверждения. С момента утверждения величины ПДК ранее установленный ОБУВ данного вещества утрачивает силу.

9.3. ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ

ПДКв.р.з. являются обязательными санитарными нормативами для использования при проектировании производственных зданий, технологических процессов, оборудования, вентиляции, а также предупредительного и текущего санитарного надзора. ПДКв.р.з. должны быть установлены для химических соединений, обладающих вредным действием, которые могут находиться в воздухе рабочей зоны в виде газов, паров, аэрозолей, а также смеси паров и аэрозоля. В полном объеме задачи гигиенического регламентирования вытекают из определения ПДК вредных веществ для воздуха рабочей зоны (ПДКв.р.з.).

Предельно допустимые концентрации вредных веществ в воздухе рабочей зоны – это концентрации, которые при ежедневной (кроме выходных дней) работе в течение 8 часов в день или другой продолжительности, но не более 41 часа в неделю, в течение всего рабочего стажа не могут вызвать заболеваний или отклонений в состоянии здоровья, обнаруживаемых современными методами исследований, в процессе работы или отдаленные сроки жизни настоящего и последующих поколений.

Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать ПДК, используемых при проектировании производственных зданий, технологических процессов, оборудования, вентиляции, для контроля за качеством производственной среды и профилактики неблагоприятного воздействия на здоровье работающих.

При установлении ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны руководствуются следующими принципами.

1. Принцип опережения разработки и внедрения профилактических мероприятий, включая нормативы содержания вредных веществ, по сравнению с моментом поступления вещества в широкую практику.
2. Принцип стадийности токсикологических исследований – синхронно со стадиями химической и технологической разработки нового продукта.
3. Принцип приоритета медицинских и биологических показаний к установлению санитарно-гигиенических регламентов перед прочими подходами (техническая достижимость, экономические требования).
4. Принцип пороговости всех видов действия химических соединений (в том числе мутагенного и канцерогенного).
5. Принцип постоянства численности вида, единства организма со средой обитания, единства организма как биосистемы (основа определения критерия вредности при разработке схем токсикометрии).

Понятие ПДК несет в себе научное, медицинское и законодательное значение.

- Научное значение ПДК заключается в том, что они не могут быть установлены произвольно, а являются отражением объективных законов природы, которые могут быть познаны во взаимоотношении организма и среды обитания, ее вредными факторами.
- Медицинское значение ПДК состоит в том, что они способствуют созданию благоприятных условий быта, жизни, отдыха, работы. Важная роль

заключается в том, что ПДК разрабатываются опережающими темпами, т.е. до широкого контакта населения с вредными веществами.

- Законодательная роль заключается в том, что научно обоснованные значения ПДК утверждаются в установленном порядке государством и являются общегосударственным стандартом, включенным в законодательные акты (ГОСТы), являются основой для оценки и регулирования качества окружающей и производственной среды в деятельности государственных органов.

9.3.1. ОБОСНОВАНИЕ ПДК

Токсикологическому исследованию в полном объеме подвергаются: вещества, подлежащие широкому внедрению в практику. Под «широким внедрением» понимается наличие контакта с контингентами работающих, количество которых составляет не менее 30 человек. Итак, обоснование ПДКв.р.з. вредного вещества включает в себя следующие разделы:

1) условия производства и применения вещества;
2) данные о его химическом строении и физико-химических свойствах;
3) токсичность и характер действия вещества при однократном поступлении;
4) порог острого действия (Lim_{ac});
5) коэффициент кумуляции ($K_{\text{кум}}$);
6) порог хронического действия (Lim_{ch});
7) исследование местно-раздражающего и кожно-резорбтивного действия;
8) обоснование $K_{\text{з}}$ (с учетом аллергенного, мутагенного и др. видов специфического действия).

Для выявления пороговых эффектов применяют интегральные и специфические показатели. Интегральные (неспецифические) показатели характеризуют общее состояние организма и позволяют определить изменения жизнедеятельности в целом, независимо от точки приложения действия вредного вещества (масса тела, частота сердечных сокращений, частота дыхания, потребление кислорода и др.).

Специфические (патогенетические) показатели определяются механизмами действия вредного вещества и применяются в тех случаях, когда выяснен патогенез (мутагенное, эмбриотропное, гонадотропное, раздражающее, нейротропное и др. виды действия).

Дадим краткую характеристику основным показателям токсикометрии.

CL_{50} – концентрация вызывающая гибель 50% подопытных животных при ингаляционном воздействии вещества при определенной экспозиции (4 часа – крысы, 2 часа – мыши) и определенном (14 суток) сроке последующего наблюдения.

КВИО – коэффициент возможности ингаляционного отравления:

$$\text{КВИО} = C^{20} / CL_{50}, \qquad (9.7)$$

где C^{20} – максимально достижимая концентрация вредного вещества при 20°С; CL_{50} устанавливается для мышей.

C^{20} рассчитывается по формуле:

$$C^{20} = \frac{P \cdot M}{18,271} \text{ мг/дм}^3, \qquad (9.8)$$

где P – упругость пара в мм рт. ст. при 20°С, M – молекулярная масса, 18,271 – const.

Для других температур:

$$C^t = \frac{16,05 \cdot P_t \cdot M}{273 + t}, \qquad (9.9)$$

где P_t – упругость пара при данной температуре. При отсутствии справочных данных упругость пара для интервала температур 30÷200°С можно рассчитать по формуле:

$$P_t = 3,5 - 0,0202(t_{кип} + 3) \text{ мм рт. ст.} \qquad (9.10)$$

Этапы обоснования ПДК вредных веществ иллюстрирует рис. 9.1.

Lim_{ac} – порог однократного острого действия вредного вещества – минимальная концентрация (доза), вызывающая изменение биологических параметров на уровне целостного организма, которые выходят за пределы приспособительных физиологических реакций.

Lim_{sp} – порог однократного (острого) специфического действия вредного вещества – минимальная концентрация (доза), вызывающая изменение биологических функций отдельных органов и систем организма, которые выходят за пределы приспособительных физиологических реакций.

Lim_{ch} – порог хронического действия вредного вещества – минимальная концентрация, вызывающая вредное действие в хроническом эксперименте по 4 часа 5 раз в неделю на протяжении не менее 4 месяцев. Четыре месяца составляет приблизительно 10% от продолжительности жизни экспериментальных животных – крыс. Выбор этого периода обусловлен разным течением привыкания к вредным веществам на производстве. В течение первых 2 лет развивается привыкание, но через 5–7 лет может наступить срыв в результате развития профессиональных болезней. Таким образом, первые 7 лет контакта с вредным веществом, составляющие ≈10% продолжительности жизни человека, являются критическими.

$Z_{b.ef}$ – зона биологического действия – отношение $CL_{50}/\mathrm{Lim}_{ch.}$ Этот показатель хорошо коррелирует с кумулятивными свойствами вещества. Следует подчеркнуть, что на основании значения $Z_{b.ef}$ для вещества, нормированного для одной из сред, можно прогнозировать ориентировочную степень кумуляции (следовательно, хронического отравления) для веществ, поступающих в организм из разных сред.

Z_{ch} – зона хронического действия – отношение $\mathrm{Lim}_{ac}/\mathrm{Lim}_{ch.}$ Чем шире эта зона, тем опаснее вредное вещество, так как возможно развитие хронического отравления при действии низких (далеко отстоящих от Lim_{ac}) концентраций вещества. Следовательно, хроническое отравление может развиваться исподволь, незаметно.

Z_{ac} – зона острого действия – отношение CL_{50}/Lim_{ac}. Величина Lim_{ac} служит показателем биологической активности вредного вещества. Поэтому чем ближе значение порога острого действия к среднесмертельной концентрации и, т.е., чем уже зона острого действия, тем вещество опаснее.

Кз – коэффициент запаса.

Расчет ПДК вредного вещества в воздухе рабочей зоны:

$$\text{ПДК} = Lim_{ch} / K_з, \qquad (9.11)$$

При определении $K_з$ руководствуются следующими соображениями – коэффициент запаса должен увеличиваться:

1) с увеличением абсолютной токсичности;
2) с увеличением КВИО;
3) с уменьшением Z_{ac};
4) с увеличением кумулятивности ($K_{кум}$, Z_{ch}, $Z_{b.ef.}$);
5) при значительных различиях в видовой чувствительности экспериментальных животных;
6) при выраженном кожно-резорбтивном действии (для веществ находящихся в газовой фазе).

Рекомендуемый диапазон значений $K_з = 3 \div 20$.

Рис. 9.1. Этапы обоснования ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны

Если верхние параметры токсичности не установлены, для определения ПДК можно воспользоваться формулой К.К. Сидорова:

$$\text{ПДК} = Lim_{ch} / K_1 K_2 K_3, \qquad (9.12)$$

где K_1 – поправочный коэффициент, учитывающий кумулятивные свойства яда и пропорциональный величине зоны его биологического действия; K_2 – поправочный коэффициент, учитывающий вариабельность видовой чувствительности к яду; K_3 – поправочный коэффициент, учитывающий специфическое действие вещества (как правило, не менее 10). Значения коэффициентов K_1 и K_2 находятся по специальным таблицам. Объективизация выбора коэффициента запаса, обоснованная К.К. Сидоровым, состоит в использовании целого комплекса количественных показателей потенциальной и реальной опасности производственного яда, выраженных в баллах.

9.3.2. ВИДЫ ПДК И КЛАССИФИКАЦИЯ ВРЕДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны бывают *максимально разовые* (ПДКм.р.), а для высококумулятивных веществ (медь, ртуть, свинец, окись кадмия и др.) – *среднесменные* (ПДКс.с.). Степень кумулятивности определяется для каждого вещества путем определения коэффициента кумуляции, зоны биологического и хронического действия, а при корректировке ПДК – по результатам повторных клинико-гигиенических наблюдений.

При одновременном содержании в воздухе рабочей зоны нескольких вредных веществ *разнонаправленного* действия значения ПДК остаются такими же, как и при изолированном воздействии.

Если в воздухе рабочей зоны одновременно содержится несколько вредных веществ *однонаправленного* действия, то сумма отношений фактических концентраций каждого из них (K_1, K_2 ... K_n) в воздухе к их ПДК ($ПДК_1$, … $ПДК_2$, $ПДК_n$) не должна превышать единицы:

$$\frac{K_1}{ПДК_1}+\frac{K_2}{ПДК_2}+\ldots\frac{K_n}{ПДК_n}\le 1. \qquad (9.13)$$

По степени воздействия на организм вредные вещества подразделяются на четыре класса опасности (табл. 9.1). Поскольку чувствительность организма и его систем часто пропорциональна логарифму интенсивности воздействия (дозе или концентрации), то разница между классами часто приближается к 10 (1-му порядку). Отнесение вещества к классу опасности производится по показателю, значение которого соответствует наиболее высокому классу опасности.

Таблица 9.1

Классификация опасности веществ по степени воздействия на организм (ГОСТ 12.1.007–76 ССБТ)

Наименование показателя	Классы опасности*			
	I	II	III	IV
ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны, мг/м^3	Менее 0,1	0,1– 1,0	1,1–10,0	Более 10,0
Средняя смертельная доза при введении в желудок, мг/кг	Менее 15	15–150	151–5000	Более 5000
Средняя смертельная доза при нанесении на кожу, мг/кг	Менее 100	100–500	501–2500	Более 2500
Средняя смертельная концентрация в воздухе, мг/м^3	Менее 500	500–5000	5001–50000	Более 50000
Коэффициент возможности ингаляционного отравления (КВИО)	Более 300	300–30	29–3	Менее 3
Зона острого действия	Менее 6,0	6,0–18,0	18,1–54,0	Более 54,0
Зона хронического действия	Более 10,0	10,0–5,0	4,9–2,5	Менее 2,5

* I класс – вещества чрезвычайно опасные; II класс – вещества высокоопасные; III класс – вещества умеренно опасные; IV класс – вещества малоопасные.

9.3.3. КОНТРОЛЬ ЗА СОДЕРЖАНИЕМ ВРЕДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

Важное значение имеет контроль за содержанием вредных веществ в воздухе рабочей зоны. Отбор проб проводится в *зоне дыхания* (т.е. в пространстве радиусом до 50 см от лица работающего) при характерных производственных условиях. Для каждого производственного участка определяются вещества, которые могут выделяться в воздух рабочей зоны. При наличии в воздухе нескольких вредных веществ контроль воздушной среды допускается проводить по наиболее опасным и характерным веществам, устанавливаемым органами государственного санитарного надзора.

Контроль за соблюдением *максимально разовой* ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны проводится на наиболее характерных рабочих местах. При наличии идентичного оборудования или выполнении одинаковых операций контроль проводится выборочно на отдельных рабочих местах, расположенных в центре и по периферии помещения. Содержание вредного вещества в данной конкретной точке характеризуется следующим суммарным временем отбора: для токсических веществ – 15 мин, для веществ преимущественно фиброгенного действия – 30 мин. За указанный период времени может быть отобрана одна или несколько последовательных проб через равные промежутки времени. Результаты, полученные при однократном отборе или при усреднении последовательно отобранных проб, сравнивают с величинами ПДКм.р. В течение смены и (или) на отдельных этапах технологического процесса в одной точке должно быть последовательно отобрано не менее трех проб. Для аэрозолей преимущественно фиброгенного действия допускается отбор одной пробы. При возможном поступлении в воздух рабочей зоны вредных веществ с остронаправленным механизмом действия должен быть обеспечен непрерывный контроль с сигнализацией о превышении ПДК. Для остальных веществ периодичность контроля устанавливается в зависимости от класса опасности вредного вещества:

- для I класса – не реже 1 раза в 10 дней,
- для II класса – не реже 1 раза в месяц,
- для III и IV классов – не реже 1 раза в квартал.

В зависимости от конкретных условий производства периодичность контроля может быть изменена по согласованию с органами государственного санитарного надзора. При установленном соответствии содержания вредных веществ III, IV классов опасности уровню ПДК допускается проводить контроль не реже 1 раза в год,

Контроль за соблюдением *среднесменных* ПДК. Измерение проводят приборами индивидуального контроля либо по результатам отдельных измерений. В последнем случае ее рассчитывают как величину, средневзвешенную во времени, с учетом пребывания работающего на всех (в том числе и вне контакта с контролируемым веществом) стадиях и операциях технологического процесса. Для постоянных рабочих мест при систематическом прерывистом определении содержания химических веществ в воздухе рабочей зоны в течение всей смены (или не менее 75% ее продолжительности) ПДКс.с. могут

быть рассчитаны из разовых измерений. При отсутствии постоянных рабочих мест ПДКс.с. рассчитывается как средневзвешенная по формуле:

$$\left(\text{ПДК}c.c.\right) Kc.c. = \frac{k_1 t_1 + k_2 t_2 + \ldots k_n t_n}{t_1 + t_2 + \ldots t_n}, \qquad (9.14)$$

где Kс.с. – среднесменная концентрация химического вещества, $k_{1,2\ldots n}$ – средняя величина концентрации химического вещества на отдельных стадиях технологического процесса, $t_{1,2\ldots n}$ – продолжительность пребывания на соответствующих рабочих местах.

Чувствительность методов и приборов контроля не должна быть ниже 0,5 уровня ПДК. Методики и средства должны обеспечивать избирательное измерение концентрации вредного вещества в присутствии сопутствующих компонентов на уровне 0,5 ПДК. Границы допускаемой погрешности измерений концентрации вредных веществ в воздухе рабочей зоны, равных ПДК или более, должны составлять ± 25% от измеряемой величины при доверительной вероятности 0,95; при измерениях концентраций ниже ПДК – границы допускаемой абсолютной погрешности измерений должны составлять ± 0,25 ПДК в мг/м^3 при доверительной вероятности 0,95. Это требование распространяется на результаты единичных измерений (измерений, полученных при однократном отборе проб). Для веществ, ПДК которых ниже 1,0 мг/м^3, допускается увеличивать указанные нормы не более, чем в 2 раза.

9.3.4. КРИТЕРИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЪЕМА И ОЧЕРЕДНОСТИ ИССЛЕДОВАНИЙ ДЛЯ УСКОРЕННОГО ОБОСНОВАНИЯ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ

В некоторых случаях возможно ускоренное обоснование гигиенических нормативов по сокращенной программе. Это имеет отношение к веществам, принадлежащим к гомологическому ряду, представители которого имеют утвержденную величину ПДК для воздуха рабочей зоны. Для таких веществ ПДК устанавливается на основе сопоставления известных параметров токсикометрии. Если вещества принадлежат к изученному классу соединений с избирательным механизмом действия, ПДК устанавливается по соотношению показателей избирательной токсичности. Для веществ, имеющих гигиенические нормативы в других средах, разработанные по показателям общей токсичности, а также по показателям общего и избирательного (специфического) действия, ПДК устанавливаются путем сравнения токсичности и опасности при разных путях поступления вещества в организм (например, известный орально-ингаляционный коэффициент, общий характер метаболизма и др.).

Для веществ III класса опасности со слабо выраженной кумуляцией (K_{cum} > > 5 по методу Ю.С. Кагана и В.В. Станкевича и больше 6 по методу Лима и др.) и не обладающих избирательной токсичностью, цитогенетическим эффектом in vivo, а также сенсибилизирующими свойствами по данным краткосрочных тестов (внутрикожных и кожных), гигиенические нормативы устанавливаются расчетным путем.

Для нелетучих порошкообразных соединений и материалов, которые по величине DL_{50} при введении в желудок могут быть отнесены к малоопасным соединениям (IV класс опасности), либо не вызывают гибели животных при внутрибрюшинном введении крысам в дозе 1 г/кг и имеют в своем составе не более 5% минеральных компонентов (в том числе не более 2% свободной двуокиси кремния), ПДК может устанавливаться на уровне 10 мг/м^3 без проведения дополнительных исследований токсичности и фиброгенности.

Наконец, для газов и паров высоколетучих веществ (летучесть 200 г/м^3 и выше) максимальная величина ПДК не должна превышать 3000 мг/м^3.

9.3.5. КРИТЕРИИ ВЫБОРА ВЕЩЕСТВ, НЕ НУЖДАЮЩИХСЯ В УСТАНОВЛЕНИИ НОРМАТИВОВ

Не нуждаются в установлении гигиенических нормативов в воздухе рабочей зоны вредные вещества, отвечающие следующим критериям.

- Вещества, попадание которых в воздух рабочей зоны в виде паров и аэрозолей или их смеси исключено из-за их физико-химических свойств, а также условий производства и применения.
- Пары жидкостей, присутствующих в воздухе рабочей зоны при нормальных условиях (температура воздуха 20°С и атмосферном давлении 760 мм рт. ст.) и относящихся к IV классу опасности по величине LD_{50} (при введении в желудок) или CL_{50}, если:

– количество выпускаемого продукта за год составляет не более 1000 кг;

– количество лиц, контактирующих с данным веществом, ограничено (не более 10 человек);

– вещество имеет высокую температуру кипения ($t > 165^oC$) при нормальных условиях, КВИО < 3;

– вещество, насыщающая концентрация паров которого ниже расчетной ПДК, в соответствии с методическими указаниями по установлению ориентировочных безопасных уровней воздействия веществ в воздухе рабочей зоны. Однако эти положения не распространяются на аэрозоли и смеси паров и аэрозолей, а также на вещества, потенциально опасные в плане возможности развития отдаленных эффектов.

- Вещества, легко гидролизующиеся в воздухе с образованием продуктов гидролиза, токсичность которых изучена и гигиенические нормативы которых установлены.
- Смеси постоянного состава, содержащие компоненты, для которых установлены ПДК при изолированном воздействии, т.к. контроль следует осуществлять по наиболее опасному (ведущему) компоненту.

9.4. ТЕСТ ЭКСПОЗИЦИИ

Для низколетучих, но активно проникающих через кожу вредных веществ должны устанавливаться **тесты экспозиций**: показатель, характеризующий содержание вредного вещества и продуктов его превращения в организме человека (в крови, моче, выдыхаемом воздухе) или степень угнетения активности определенных ферментов, соответствующая общей поглощенной дозе вредного вещества.

Однако тесты экспозиции не могут заменить санитарных нормативов содержания веществ во внешней среде и должны применяться вместе с ними. Примерами тестов экспозиции могут служить повышение содержания карбоксигемоглобина в крови при воздействии монооксида углерода, метгемоглобина при отравлениях метгемоглобинобразующими ядами, снижение активности холинэстеразы при воздействии фосфорорганических пестицидов и др. Например, при понижении активности холинэстеразы крови на 25–30% симптомов отравления не возникает. При ингибировании активности этого фермента на 50–70% возникают легкие отравления. При отравлениях средней тяжести активность снижена на 80–90%, а при тяжелых отравлениях активность холинэстеразы крови может быть полностью угнетена. По сути, тест экспозиции является одной из разновидностей биологических маркеров, ориентированных на производственные воздействия.

9.5. ЗАРУБЕЖНЫЙ ОПЫТ

В США аналогом ПДК является TLV – Threshold limit value – величина порогового предела – это концентрации, при которых могут находиться примерно все работающие повторно по 8 часов в день, 5 дней в неделю. Так как существует широкая вариабельность в индивидуальной чувствительности, то небольшой процент работающих может испытывать дискомфорт, а еще меньшая часть может иметь более серьезные нарушения при воздействии веществ в концентрациях близких к TLV. Подобный подход реализует концепцию «риск – стоимость», т.е. каков приемлемый уровень опасности (риска) при том или ином уровне загрязнений. В отечественной гигиене основной критерий – уровень безопасности воздействия. В США стандарты на содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны представлены двумя величинами: TLV–TWA и TLV–STeL. TLV–TWA – средневзвешенные по времени концентрации, воздействию которых могут подвергаться работающие 8 часов в день при 40 часовой рабочей неделе без каких–либо негативных признаков почти у всех работающих. TLV–STeL – максимальные концентрации, воздействию, которых могут подвергаться работающие в течение 15 минут без ощущения непереносимого раздражения, развития хронических необратимых изменений в тканях или наркотического состояния, не вызывающего повышения количества несчастных случаев, ухудшения самочувствия или снижения производительности труда. Подчеркивается, что такое воздействие может повторяться не более, чем 4 раза в течение смены, с интервалом не менее 60 минут. В списке стандартов США имеется также TLV–C (потолочные) максимально допустимые концентрации, превышение которых запрещено.

Глава 10

ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В ВОЗДУХЕ АТМОСФЕРЫ НАСЕЛЕННЫХ ПУНКТОВ

10.1. ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

При планировании и осуществлении всех природоохранных мероприятий важное значение имеют эколого-гигиенические критерии качества атмосферного воздуха[31]. В первую очередь это имеет отношение к разработке проектных материалов строительства или реконструкции любого производства. Такие материалы должны содержать информацию о качественном составе и количественных характеристиках производственных выбросов (предельно допустимых выбросов, ПДВ) в воздушный бассейн[32]. ПДВ загрязняющих веществ, поступающих в атмосферу от источников загрязнения или их совокупности, устанавливаются на уровне, соответствующем их содержанию в приземном слое атмосферы, не превышающем ПДК на границе санитарно-защитной зоны. Далее ПДК необходимы при медико-профилактической оценке влияния загрязнения атмосферного воздуха на состояние здоровья населения. Кроме того, при прогнозе санитарной ситуации ПДК являются эталоном сравнения и используются для оценки превышения фактического загрязнения установленного норматива. Наконец, ПДК являются инструментом для принятия решений при планировании и реализации мероприятий по охране атмосферного воздуха от загрязнения и экспертизе оценки их эффективности.

Содержание вредных веществ в атмосферном воздухе населенных пунктов должно отвечать следующим критериям:

— быть ниже порога острого и хронического воздействия на человека, животных и растительность;

— быть ниже порога запаха и раздражающего действия на слизистые оболочки глаз и дыхательных путей;

— быть значительно ниже значений, принятых для воздуха производственных помещений.

В соответствии с этими критериями разрабатываются принципы установления максимально разовых (ПДКм.р.) и среднесуточных (ПДКс.с.) предельно допустимых концентраций атмосферных загрязнений. При этом ПДКм.р.

[31] Впервые закон СССР «Об охране атмосферного воздуха» был принят в 1980 г.

[32] Подробнее см. гл. 15.

направлены на предупреждение рефлекторного действия токсических соединений, в основном обладающих запахом, а ПДКс.с. – резорбтивного (общетоксического) влияния токсических веществ, которые могут и не обладать специфическим запахом.

В отличие от процедуры нормирования вредных веществ в воздухе рабочей зоны в условиях прерывистого поступления вещества, при обосновании ПДК вредных веществ в воздухе атмосферы предусматривается непрерывный режим контакта организма человека, проживающего в данной местности, с такими поллютантами. Поэтому в этом случае базовой моделью токсикодинамики вредных веществ является зависимость «концентрация – время» при наступлении фиксированного эффекта, а не «концентрация – эффект» при фиксированной экспозиции, как в случае воздуха рабочей зоны.

Известно, что при непрерывной ингаляции различных органических и неорганических веществ наступление острых токсических эффектов (боковое положение, гибель животных), а также развитие физиологических, биохимических и патоморфологических сдвигов в координатах «концентрация – время» может быть описана гиперболической зависимостью. Такие зависимости в билогарифмическом масштабе аппроксимируются прямыми линиями с различными углами наклона (рис. 10.1).

Рис. 10.1. Схема прогнозирования порогов хронического действия вредных веществ экстраполяцией кривой «концентрация – время» уравнением $\lg C = \lg C_0 - \operatorname{tg} \alpha \cdot \lg T$, где С – концентрация, вызывающая определенный эффект за время *T*; Со – концентрация, вызывающая тот же эффект за время, равное простой единице измерения (час, сутки); α – угол наклона прямой к оси абсцисс (концентраций); Т – время, на которое экстраполируется порог хронического действия вещества (2880 ч)

Таким образом, параметры зависимостей «концентрация – время» позволяют судить о токсичности и опасности загрязняющего вещества при его резорбтивном действии. С увеличением тангенса угла наклона (или уменьшени-

ем самого угла) опасность вещества снижается, поскольку в этом случае возрастает время наступления токсического эффекта. С помощью специально разработанных номограмм (Пинигин, 1976) можно классифицировать вещества по степени опасности развития острой и хронической интоксикации. Следует отметить, что класс опасности вещества, установленный при его непрерывной ингаляции (нормирование загрязнения атмосферы), остается таким же и при его прерывистом поступлении в организм (нормирование загрязнений в воздухе рабочей зоны). Таким образом, в списках ПДК атмосферных загрязнений классы опасности загрязняющих веществ соответствуют классам, принятым для этих же веществ в промышленной токсикологии.

В соответствии с гиперболическим характером зависимостей «концентрация – время» при установлении ПДК атмосферных загрязнений следует принимать во внимание тот факт, что с увеличением степени осреднения по времени (например, 30 мин, 24 ч, 1 месяц, 1 год) абсолютные значения максимальных концентраций уменьшаются. Следовательно, ПДК также должны быть дифференцированы по времени осреднения: 30-минутные, среднесуточные, среднемесячные и среднегодовые. Однако при этом следует учитывать, что одинаковый по выраженности токсический эффект может развиваться за длительный период как при непрерывном действии небольшой концентрации, так и при периодическом (интермиттирующем) воздействии пиковых (максимальных) уровней. При этом токсический эффект разовьется тем раньше, чем больше будет амплитуда пиков и частота их появления, а также чем более выражены кумулятивные свойства вещества. Следовательно, при увеличении опасности вещества, соотношения среднегодовой и максимально разовой концентрации необходимо более жестко регламентировать значение допустимой вероятности появления в течение года концентраций на уровне ПДК, установленных для более коротких периодов осреднения (30 мин, 24 ч, 1 месяц). Подробнее этот вопрос будет рассмотрен ниже.

Необходимость установления дифференцированных по времени ПДК с ограничением вероятности их появления получила свое отражение в определении ПДК атмосферных загрязнений.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) вредного вещества в атмосферном воздухе населенных мест – это максимальная его концентрация, отнесенная к определенному периоду осреднения (30 мин, 24 ч, 1 месяц, 1 год), которая при регламентированной вероятности ее появления не оказывает прямого или косвенного вредного действия на организм человека, его потомство и санитарные условия жизни.

Регламентация уровней содержания атмосферных загрязнений базируется на следующих принципах (Пинигин, 1980):

— обеспечение оптимального для нормальной жизнедеятельности человека состояния воздушной среды;

— охрана здоровья населения, включая самые чувствительные и легко ранимые его контингенты – дети, старики, больные;

— учет непосредственного действия загрязняющих веществ (рефлекторного или резорбтивного) и косвенного воздействия (снижение прозрачности атмосферы, уменьшение освещенности жилищ, снижение напряжения ультрафиолетовой радиации и т.д.) на организм человека. Регламентирование ведется по тому показателю, который оказывается наиболее чувствительным (лимитирующим). Например, если какое-либо вещество оказывает вредное действие на санитарные условия жизни населения в концентрациях, меньших, чем на организм человека, то при установлении ПДК исходят из порога действия этого вещества на санитарные условия жизни;

— установление порогов действия атмосферных загрязнений на организм. При этом пороговая концентрация загрязнений рассматривается как условная, но практически необходимая величина для установления ПДК;

— недопустимость любого достоверного или длительно сохраняющегося отклонения какого-либо показателя нормальной жизнедеятельности организма. Такие функциональные сдвиги трактуются как проявление биологически значимого вредного воздействия.

При нормировании атмосферных загрязнений необходимо учитывать, что:

— воздействие атмосферных загрязнений может продолжаться круглосуточно на протяжении всей жизни человека;

— население неоднородно, и в его состав входят старики, лица с различными хроническими заболеваниями, отличающиеся повышенной чувствительностью к вредным воздействиям.

Итак, предельно допустимая концентрация атмосферных загрязнений не должна вызывать снижения адаптационных возможностей организма, о которых судят на основании применения в эксперименте функциональных нагрузок химической, физиологической и биологической природы. Ключевым моментом в экспериментальной процедуре обоснования ПДК атмосферных загрязнений является установление порога хронического действия.

Порогом хронического ингаляционного действия считается минимальная концентрация вещества, вызывающая при непрерывном и фиксированном по длительности воздействии изменения наиболее чувствительных для данного токсиканта показателей жизнедеятельности организма животных, выходящие за пределы физиологических отклонений (с достоверностью 95% и более).

Таким образом, эксперимент по установлению ПДК химического вещества в атмосферном воздухе состоит из следующих основных этапов:

— установление пороговой концентрации по рефлекторному действию химического вещества на организм человека;

— установление пороговой концентрации по его резорбтивному действию;

— анализ и обобщение результатов эксперимента по обоснованию ПДК вредного вещества в воздухе.

10.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОГОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ВРЕДНОГО ВЕЩЕСТВА ПО РЕФЛЕКТОРНОМУ ДЕЙСТВИЮ

Вредные вещества, обладающие запахом и присутствующие в воздухе атмосферы, вызывают возникновение рефлекторных реакций (головная боль, нарушения дыхания и др.), приводит к ухудшению самочувствия, снижению работоспособности, провоцирует возникновение аллергических реакций. Необходимо также учитывать абсолютную непереносимость запаха у 2–3% людей. Поэтому запах наиболее часто используют для обоснования величины ПДКм.р. загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест.

Исследования проводят на группе добровольцев (волонтеров), состоящей из 20–30 человек обоего пола в возрасте от 18 до 55 лет, не имеющих нарушений в состоянии органов обоняния и полости рта. Перед началом опытов вся группа волонтеров должна быть ознакомлена с запахом вещества, для чего за 2–3 дня до начала основного эксперимента каждому испытуемому предъявляется концентрация вещества (по уровню и продолжительности ее воздействия абсолютно безвредная для здоровья), величина которой позволяет безошибочно определить запах данного вещества.

Порог обонятельного ощущения определяют на основе субъективного суждения волонтеров о наличии или отсутствии запаха по принципу «да» – «нет». При этом учитывают наличие не только специфического запаха, но и «неопределенного», когда человек ощущает какой-то запах, но не может определить его принадлежность к конкретному веществу. Эксперимент начинают с явно «пахнущей» концентрации, которую безошибочно с одного – двух вдохов определяют не менее 85% волонтеров.

При получении положительных ответов у всех лиц в пределах 85±20% результаты определений обрабатывают графическим методом пробит-анализа. На стандартной пробитной сетке по оси абсцисс откладывают значения концентраций, а по оси ординат – соответствующие проценты положительных ответов. При получении 100% положительных ответов вычисляют «исправленное» значение по формуле:

$$[(N-0,25)\cdot 100]/N, \qquad (10.1)$$

где N – общее число предъявлений данной концентрации. Рассчитанное «исправленное» значение наносят на график вместо 100%.

Полученные точки соединяют прямой таким образом, чтобы наиболее приближенными к ней оказались те из них, которые соответствуют значениям, лежащим в интервале $ЕС_{16} \div ЕС_{84}$. Полученная прямая зависимости «концентрация – эффект» используется для определения значения порога обонятельного ощущения. Пороговой является концентрация, которая соответствует 16% обнаружения запаха ($ЕС_{16}$). Данная концентрация – вероятностный порог запаха исследуемого вещества. Величину ПДК 30-минутного периода осреднения ($ПДК_{30мин}$) устанавливают на основе значения вероятностного порога запаха с учетом *класса опасности* и *коэффициента запаса*. Класс опасности атмосферных загрязнений по ольфакторным реакциям определяют по углу наклона прямой зависимости вероятности обнаружения запаха от ве-

личины воздействующей концентрации вещества (рис. 10.2), построенной на стандартизованной логарифмически-вероятностной (пробитной) сетке.

Рис. 10.2. Номограмма для определения класса опасности вещества по углам наклона прямой зависимости «концентрация – эффект» по рефлекторному действию (Андреещева, Пинигин, 1978); 1 – чрезвычайно опасные; 2 – опасные; 3 – умеренно опасные; 4 – малоопасные

Рис. 10.3. Номограмма определения коэффициента запаса при обосновании $ПДК_{30мин}$ по углу наклона прямой «концентрация – эффект» (Андреещева, Пинигин, 1978)

Коэффициент запаса устанавливают в зависимости от класса опасности вещества по номограмме (рис. 10.3). При угле наклона прямой менее 30° зна-

чение коэффициента запаса принимается равным 1. Итоговое значение ПДКм.р. при 30-минутном времени осреднения рассчитывают по формуле:

$$\text{ПДК}_{30\,мин} = EC_{16} / K_3 \text{ (вероятностный порог).} \qquad (10.2)$$

При использовании этого метода отпадает необходимость изучения рефлекторных реакций с помощью дополнительных методов, поскольку коэффициент запаса учитывает рефлекторное действие субсенсорных концентраций.

10.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОГОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ВРЕДНОГО ВЕЩЕСТВА ПО РЕЗОРБТИВНОМУ ДЕЙСТВИЮ

Установление ПДК атмосферных загрязнений более длительных периодов осреднения (например, среднесуточных – ПДКс.с.) базируется уже на результатах изучения резорбтивного (общетоксического) действия в эксперименте на лабораторных животных. Напомним, что при экспериментальной оценке влияния атмосферных загрязнений на организм лабораторных животных, в отличие от установления гигиенических регламентов загрязняющих веществ для воздуха рабочей зоны, при проведении хронического эксперимента используется метод *непрерывной* ингаляционной затравки, поскольку в условиях населенных пунктов человек может подвергаться постоянному воздействию атмосферных загрязнений. Поэтому ПДКс.с. устанавливаются на основе хронического токсикологического эксперимента на животных, в котором имитируются условия длительного контакта человека с вредным веществом.

Как уже указывалось, в основе методической схемы, позволяющей определять параметры токсичности и опасности атмосферных загрязнений при резорбтивном действии, лежит гиперболическая зависимость времени развития определенных токсических эффектов от концентраций, которая в билогарифмических координатах преобразуется в прямую линию. Таким образом, при изучении зависимости «концентрация – время» постоянной величиной является эффект, а переменными – концентрация и время. При этом в качестве эффекта принимается первое статистически значимое изменение биологических показателей у экспериментальных животных.

В опыте экспериментальные животные подвергаются непрерывному ингаляционному воздействию изучаемого вещества в 4–5 концентрациях в специальных 200-литровых камерах. Оптимальное число животных, которое можно поместить в 200-литровую камеру, составляет 12 особей (300 см^2 площади пола на 1 животное). При выборе концентраций ориентиром может служить ожидаемое время появления статистически достоверного токсического эффекта, которое по мере снижения концентраций должно составлять 4 ч, 24 ч, 1 мес. и 4 мес. (2880 час). Как правило, в качестве первой используют концентрацию, равную порогу острого действия (Lim_{ac}) или 1/2 – 1/10 среднесмертельной концентрации (LC_{50}). Задачей эксперимента является установление пороговой и подпороговой (недействующей) концентрации по резорбтивному действию загрязняющего вещества, последняя из которых чаще всего и при-

нимается за предельно допустимую концентрацию этого вещества в атмосферном воздухе населенных мест. Для выявления ранних изменений, происходящих в организме под воздействием изучаемого вещества, вызванных, снижением адаптационных возможностей организма, используются функциональные нагрузки на организм животных. Кроме того, необходимо учитывать возможность развития отдаленных последствий действия токсикантов: гонадотоксического, эмбриотоксического, мутагенного, канцерогенного и аллергенного эффектов.

За порог острого действия принимают наименьшую концентрацию, вызывающую эффект к 4 час. экспозиции, в свою очередь наименьшая из действующих концентраций для 4 мес. экспозиции (или 2880 час.) соответствует порогу хронического действия. В зависимости от углов наклона прямых «концентрация – время» в билогарифмических координатах (или тангенсов этих углов) атмосферные загрязнения по степени опасности хронического резорбтивного действия подразделяются на 4 класса (рис. 10.4, А, табл. 10.1). С помощью номограммы (рис. 10.4, Б) с учетом углов наклона прямых «концентрация–время» определяют коэффициенты запаса.

Рис. 10.4. Номограмма определения коэффициентов запаса в зависимости от угла наклона кривых зависимости «концентрация – время»

Таблица 10.1

Классификация атмосферных загрязнений по степени опасности хронического резорбтивного действия

Класс опасности		Параметры прямой		Уменьшение концентрации веществ	Увеличение времени наступления эффекта
		Угол наклона, градусы	tg угла наклона		
I	Чрезвычайно опасные	> 155	< 0,475	В 10 раз	В 3 раза
II	Высокоопасные	155–137	0,475–0,950	В 10 раз	В 3–9 раз
III	Умеренно опасные	137–125	0,950–1,425	В 10 раз	В 9–27 раз
IV	Малоопасные	< 125	> 1,425	В 10 раз	> 27 раз

Делением порогов хронического действия по каждому показателю на соответствующие коэффициенты запаса устанавливают *недействующие концентрации*, и наименьшее значение из полученных недействующих концентраций принимают в качестве ПДКс.с. содержания вещества в атмосферном воздухе населенных пунктов.

10.4. СООТНОШЕНИЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ПО ВРЕМЕНИ ОСРЕДНЕНИЯ ПДК

При установлении дифференцированных по времени ПДК вредного вещества возникает задача установления соотношения их уровней. В тех случаях, когда значения *наименьших недействующих концентраций* по резорбтивному влиянию превышают или равны значению таковых по рефлекторному, устанавливают только максимально разовые (30-минутные ПДК) на уровне концентрации, не действующей на обонятельный анализатор, т.е. в соответствии с принципом лимитирующего показателя. При этом допустимая вероятность появления концентрации на уровне и ниже максимально разовой ПДК принимается равной 84%.

В том случае, если фактическое загрязнение атмосферного воздуха данным веществом может превысить уровень ПДКм.р. более чем в 16% случаев, должна быть проанализирована опасность резорбтивного действия на население и необходимость внесения соответствующих указаний в список ПДК. Опасность резорбтивного действия определяют с учетом класса опасности вещества в отношении развития хронической интоксикации, а также с учетом различия значений максимально разовых ПДК и недействующих концентраций.

Опасность резорбтивного действия признается в следующих случаях, когда указанные концентрации различаются:

1) для веществ I класса более чем в 3 раза;
2) для веществ II класса более чем в 5 раз;
3) для веществ III класса более чем в 10 раз.

Во всех указанных случаях в список ПДК в графу «Примечание» вносят слова «возможно резорбтивное действие».

В тех случаях, когда значение наименьшей недействующей концентрации по резорбтивному влиянию ниже таковой по рефлекторному, а соотношение между указанными концентрациями меньше 30, с помощью номограммы устанавливают среднегодовую, среднемесячную и среднесуточную ПДК с учетом резорбтивного влияния, а также 30-минутную разовую ПДК с учетом рефлекторного действия

Значение среднемесячной и среднесуточной ПДК устанавливают с учетом отношения между разовой и среднегодовой ПДК по номограмме (рис. 10.5). Значение среднесуточной и среднемесячной ПДК определяют умножением среднегодовой ПДК на величину соотношений, найденных по номограмме.

Рис. 10.5. Номограмма определения отношений среднесуточной и среднемесячной концентраций к среднегодовой по заданному отношению разовой ПДК к среднегодовой (Гончарук, Сидоренко, 1986)

Рис. 10.6. Номограмма для определения допустимой вероятности появления концентраций коротких периодов осреднения (Гончарук, Сидоренко, 1986)

Допустимую вероятность появления концентраций на уровне и ниже разовых или среднесуточных ПДК устанавливают с учетом степени опасности вещества в отношении развития хронической интоксикации и соотношения между среднегодовой (ПДКс.г.) и максимально разовой ПДК по номограмме (рис. 10.6).

На номограмме мысленно проводят горизонтальную линию от точки на оси ординат, соответствующей заданному уровню соотношения ПДКм.р. и ПДКс.г., до пересечения с наклонной линией, соответствующей углу прямой зависимости «концентрация – время», отражающей изменения лимитирующего биологического теста при ингаляции данного вещества. Из точки пересечения опускают перпендикуляр на ось абсцисс, означающую допустимую вероятность появления концентраций на уровне и выше разовой или среднесуточной ПДК. Для получения допустимой вероятности появления концентраций на уровне и ниже указанных нормативов необходимо из 100% вычесть найденную вероятность.

В тех случаях, когда соотношение между 30-минутной и среднегодовой ПДК более 30, а также когда вещество обладает резорбтивным действием, не оказывая рефлекторного, в качестве лимитирующего показателя используют резорбтивное влияние и устанавливают среднегодовые, среднемесячные, среднесуточные, а также 30-минутные ПДК (30-минутные ПДК в этом случае устанавливают для обеспечения оперативного контроля загрязнения воздуха).

Поскольку в качестве среднегодовой концентрации в этом случае принимают также наименьшую из недействующих концентраций, среднемесячную, среднесуточную и разовую ПДК следует устанавливать с учетом соотношения, которое складывается между максимальными концентрациями данного вещества различной степени осреднения, в натурных условиях. Соотношение между максимальными концентрациями данного вещества определяют на основе натурных наблюдений или данных литературы. При отсутствии таковых и невозможности проведения натурных исследований в качестве соотношения между среднегодовой и максимальными среднемесячной, среднесуточной и максимально разовой (30-минутной) концентрациями следует принимать следующее отношение:

$$\text{ПДКс.г.} : \text{ПДКс.м.} : \text{ПДКс.с.} : \text{ПДКм.р.} = 1 : 1{,}5 : 4 : 10 .$$

Следовательно, для получения среднемесячной ПДК необходимо величину среднегодовой ПДК умножить на 1,5; среднесуточной ПДК – на 4 и разовой – на 10.

Таким образом, на основании обсуждения полученных экспериментальных данных по изучению рефлекторного и резорбтивного действия вещества, загрязняющего атмосферный воздух, устанавливают дифференцированные по времени ПДК.

10.5. КРИТЕРИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЪЕМА И ОЧЕРЕДНОСТИ ИССЛЕДОВАНИЙ, НЕОБХОДИМЫХ ДЛЯ УСКОРЕННОГО ОБОСНОВАНИЯ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ

Ускоренное обоснование гигиенических нормативов допускается для веществ, для которых достаточно обосновать только ОБУВ, а также в том случае, если объем производства составляет до 10 т/г или речь идет об опытном

производстве. Возможно ускоренное обоснование гигиенических нормативов для веществ, являющихся мало- или умеренно опасными (III, IV класса опасности), слабокумулятивнми и не обладающими специфическими эффектами: аллергенным, мутагенным, нейротоксическим и т.д.

Ускоренное обоснование гигиенических нормативов возможно также для веществ, ПДК которых обосновываются экспериментальными экспресс-методами, расчетными методами или по аналогии, либо эти вещества относятся к хорошо изученному классу соединений, аналоги которых имеют ПДК в атмосферном воздухе. Допускается ускоренное обоснование гигиенических нормативов для аэрозолей веществ, имеющих нормативы в воздухе рабочей зоны не менее 10 мг/м^3, а также веществ, имеющих ПДК, установленные в других средах, либо достаточные данные литературы об их опасности и токсичности, характере и механизме биологического действия, специфических (отдаленных) эффектах с указанием уровней (доз и концентраций) их проявления.

10.6. КРИТЕРИИ ВЫБОРА ВЕЩЕСТВ, НЕ НУЖДАЮЩИХСЯ В УСТАНОВЛЕНИИ НОРМАТИВОВ

Для веществ, попадание которых в атмосферный воздух исключается в силу физико-химических свойств, установление нормативов (ПДК) не требуется. Исключение составляют случаи, когда в результате особенностей технологического процесса (высокая температура, дезинтеграция и т.д.) в атмосферный воздух могут поступать летучие компоненты, продукты трансформации и разложения. Кроме того, не требуется установление нормативов для веществ с малыми объемами производства (до 1 т/год) или выброса менее 1 кг/год. Это же относится к случаям, когда расчетная максимальная концентрация не обладающих запахом веществ на границе санитарно-защитной зоны составляет < 0,1 мг/м^3 для веществ III класса опасности и < 0,5 мг/м^3 для веществ IV класса опасности. Не требуется также установление нормативов для веществ нелетучих, легко разрушающихся (гидролиз) с образованием хорошо изученных и имеющих нормативы продуктов. Нормативы не устанавливаются для *чрезвычайно опасных веществ*, относящихся к гормонам, цитостатикам, аллергенам, отдельным группам антибиотиков, *выброс которых в атмосферу населенных мест запрещен.*

Глава 11

ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДАХ

Важность санитарно–гигиенического и экологического нормирования вредных веществ в воде водоемов трудно переоценить в связи со значением воды как экологического ресурса в функционировании биосферы и человечества, в частности.

Эколого-гигиенические нормативы предназначены для охраны всех видов вод, используемых населением, в том числе поверхностных, подземных водоисточников и водопроводной воды. Предусматриваются следующие виды нормативов:

– предельно допустимые концентрации (ПДК),
– ориентировочные допустимые уровни (ОДУ).

ПДК – *это максимальная концентрация вещества в воде, в которой вещество при ежедневном поступлении в организм в течение всей жизни не оказывает прямого или опосредованного влияния на здоровье населения в настоящем и последующих поколениях, а также не ухудшает гигиенических условий водопользования.*

ОДУ – *это ориентировочный допустимый уровень химического вещества в воде – временный гигиенический норматив, разрабатываемый на основе расчетных и экспресс-экспериментальных методов прогноза токсичности и применяемый только на стадии предупредительного санитарного надзора за проектируемыми или строящимися предприятиями, реконструируемыми очистными сооружениями.*

Значимость ПДК и ОДУ в системе водно-санитарного законодательства определяется тем, что соблюдение этих нормативов создает благоприятные условия водопользования, обеспечивая безопасность воды для здоровья населения. Наличие нормативов позволяет рассчитать нормативы допустимых сбросов (НДС) и использовать их при предупредительном и текущем санитарном надзоре. Сопоставление реальных уровней содержания веществ в воде с их ПДК или ОДУ дает возможность судить, в какой мере вредны и при каких условиях могут быть безвредными промышленные и другие загрязнения, а также оценить эффективность водоохранных мероприятий. Кроме того, эколого-гигиенические нормативы необходимы при выборе приоритетных показателей загрязнения воды, а также при сертификации материалов, реагентов, оборудования, технологий, используемых в системах водоснабжения и очистке сточных вод.

11.1. АЛГОРИТМ ОБОСНОВАНИЯ ЭКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ СОДЕРЖАНИЯ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В ВОДЕ

Особенность эколого-гигиенического нормирования химических веществ в воде заключается в том, что при установлении ПДК учитывается несколько признаков вредности:

- органолептический,
- токсикологический,
- общесанитарный.

Минимальная из двух (или трех) величин рекомендуется как ПДК с указанием *лимитирующего признака вредности*.

Для удобства дальнейшего изложения материала приведем условные обозначения, используемые в тексте главы (табл. 11.1).

Таблица 11.1

Условные обозначения

Аббревиатура	Показатель
ПДК	Предельно допустимая концентрация
ОДУ	Ориентировочный допустимый уровень
DL_{50}	Доза средняя смертельная
CL_{50}	Концентрация средняя смертельная
TL_{50}	Среднее время гибели животных
Lim_{ac}	Порог острого действия
$ПД_{ПЭК}$ (Lim_{subac})	Пороговая доза подострого опыта
$ПД_{хр}$ Lim_{chr} $ПК_{хр}$)	Пороговая доза (концентрация) хронического опыта
$ПД_{общ}$ ($ПК_{общ}$)	Пороговая доза (концентрация) хронического опыта по общетоксическому эффекту
$ПК_{орг}$	Пороговая концентрация по органолептическому признаку вредности
$ПК_{сан}$	Пороговая концентрация по влиянию на санитарный режим водоема
МНД	Максимальная недействующая доза хронического опыта
$МНД_{общ}$	Максимальная недействующая доза хронического опыта по общетоксическому эффекту
$МНД_{отд}$	Максимальная недействующая доза хронического опыта по отдаленным эффектам
МНК	Максимальная недействующая концентрация
ДСД	Допустимая суточная доза
БПК	Биохимическое потребление кислорода
$К_э$	Коэффициент запаса для расчета МНД на основе ПД

Оптимальный объем экспериментов определяется в зависимости от токсичности и опасности конкретного вещества. Методической основой определения оптимального объема исследований служит схема последовательного (этапного) нормирования. В свою очередь, составной частью схемы является классификация опасности веществ, загрязняющих воду. В классификации веществ используется несколько критериев (табл. 11.2).

Таблица 11.2

Классификация опасности веществ при этапном обосновании ПДК (ОДУ) в воде

Последовательность оценки опасности веществ	Критерий	Класс опасности			
		Первый (чрезвычайно опасные)	Второй (высоко–опасные)	Третий (умеренно опасные)	Четвертый (малоопасные)
1	$ПК_{хр.}/(Пк_{орг.}; Пк_{сан.})$	–	<10	10–100	>100
2	$ПК_{хр.}$, мг/л	<0,01	0,01–1,0	>1,0–100	>100
3	$DL_{50}/ПД_{хр.}$	$> 10^5$	$10^5–10^4$	$<10^4–10^3$	$<10^3$
4	$ПД_{общ.}/ПД_{отд.}$	>10	4–10	>1–3	0,1–1
5	Стабильность	>30 суток	1–30 суток	1–24 часа	<60 мин

Первый критерий – соотношение между признаками вредности. Если пороговые концентрации по органолептическому ($ПК_{орг.}$) или общесанитарному ($ПК_{сан.}$) признаку вредности существенно ниже, чем пороговая концентрация хронического опыта по токсикологическому признаку вредности ($ПК_{хр}$), вещество рассматривается как малоопасное (4-й класс) или умеренно опасное (3-й класс).

Второй критерий – абсолютная величина пороговой концентрации по токсикологическому признаку вредности ($ПК_{хр}$) – применяется только для веществ, которые предполагается нормировать именно по токсикологическому признаку вредности: чем ниже величина $ПК_{хр}$, тем опаснее вещество.

Третий критерий – соотношение $DL_{50}/ПД_{хр}$ – является количественным критерием кумулятивных свойств веществ. Используется для уточнения 1–3 классов опасности, установленных по первому критерию и с учетом положения, согласно которому вещество тем более опасно, чем более выражена его способность к кумуляции.

Четвертый критерий – способность веществ вызывать отдаленные эффекты – обусловлен тем, что отдаленные эффекты следует рассматривать как более опасное, по сравнению с общетоксическим, действие. По этому критерию оцениваются вещества при уточнении 1–3 классов опасности. Здесь $ПК_{общ.}$– пороговая концентрация хронического опыта по общетоксическому эффекту, а $ПД_{отд.}$ – пороговая концентрация хронического опыта по отдаленным эффектам.

Пятый критерий – стабильность вещества. С учетом стабильности, относительной токсичности и опасности вещества и продуктов его трансформации могут быть изменены класс опасности, величина норматива и рекомендации к методам контроля.

11.2. ЭТАПЫ ОБОСНОВАНИЯ ПДК

Схема последовательного обоснования ПДК загрязняющих веществ в воде состоит из шести этапов (стадий), представленных в табл. 11.3.

Таблица 11.3

Схема обоснования ПДК веществ в воде

№ п/п	Название этапа	Объем исследований	Полученная информация	Класс опасности, для которого достаточна эта стадия
1	2	3	4	5
1	Принятие предварительного решения	Анализ литературы. Изучение технологии производства и/или применения. Ориентировочный расчет гигиенических параметров по физико-химическим параметрам ПДК в других объектах и других странах	Расчетные DL_{50}, МНД. Выбор схемы разработки ПДК, степень приоритетности вещества	
2	Ускоренная оценка	Оценка влияния на органолептические свойства воды и санитарный режим водоемов, выявление способности к трансформации, острые токсикологические опыты, в т.ч. для определения видовых, половых и возрастных различий чувствительности к веществу. Расчет параметров хронической токсичности по DL_{50}, TL_{50} и смешанным математическим моделям. Определение класса опасности	$ПК_{орг.}$, $ПК_{сан.}$, DL_{50}, TL_{50}, $Lim_{ас.}$, расчетные ПДхр., МНД, класс опасности, ПДК, ОДУ, способность вещества к трансформации, класс опасности по трансформации $К_{кум.}$	4–ПДК 3–ОДУ
3	Экспресс–эксперимент	Подострый опыт. Изучение гонадотоксичности по функциональным показателям, эмбриотоксичности, мутагенного эффекта в скрининговых опытах. Оценка кожно-резорбтивного действия. Прогноз параметров хронической токсичности и определение класса опасности вещества. Идентификация продуктов трансформации	$ПД_{ПЭК}$, пороговые дозы отдаленных эффектов, расчетные МНД, класс опасности, ПДК, ОДУ	3–ПДК 2–ОДУ
4	Хронический опыт	Хронический опыт для изучения общетоксического действия. Оценка мутагенного, гонадотоксического эффектов. Оценка опасности продуктов трансформации. Расчет коэффициентов запаса, экстраполяция данных с животных на человека	$ПД_{общ}$, $МНД_{общ}$, $ПД_{отд}$, $МНД_{отд}$, $К_{з}$. Сравнительная токсичность продуктов трансформации. Класс опасности, ПДК	1–2
5	Специальные исследования	Углубленное изучение канцерогенного, атеросклеротического, аллергенного эффектов. Дополнительные исследования гонадо–, эмбриотоксического, мутагенного эффектов. Обоснование ПДК	$ПД_{хр}$ по специфическим и отдаленным эффектам, ПДК	1

Примечание: 2–4 стадии схемы могут применяться как к исходному нормируемому веществу, так и к продуктам его трансформации.

Определение и уточнение класса опасности на всех стадиях гигиенической оценки вещества позволяет сделать заключение о том, достаточен ли объем полученной на данной стадии информации для надежного обоснования ПДК (или ОДУ) или необходим переход к следующей стадии методической схемы.

Первая стадия – «принятие предварительного решения» – предусматривает анализ литературы, создание и актуализацию информационных баз о физико-химических свойствах, биологической и фармакологической активности нормируемого и близких по структуре соединений; изучение технологии производства и схем применения вещества. На этой стадии производят расчет $ЛД_{50}$, $ПД_{хр}$, ($ПК_{хр}$), МНД (МНК) по физико-химическим и известным токсикометрическим параметрам, по ПДК в других объектах окружающей среды.

В том случае, когда у вещества есть хорошо изученные структурные аналоги, дают сравнительную оценку его токсичности и соединений генетически родственного ряда на тест-объектах.

Эти данные позволяют получить ключевую информацию об основных характеристиках, служащих ориентирами при определении объема дальнейших исследований, в том числе:

– о степени изученности вещества, его принадлежности к уже хорошо изученному или совершенно новому классу химических соединений;

– выраженности и механизмах токсического действия;

– способности вызывать отдаленные эффекты;

– наличии утвержденных ПДК в других средах, а также допустимых уровнях содержания вещества в объектах окружающей среды, установленных в других странах;

– путях поступления в окружающую среду;

– химических свойства вещества, агрегатном состоянии, наличии для него ГОСТа или ТУ.

В зависимости от характера и полноты полученной информации принимается решение о дальнейших исследованиях:

– если вещество может поступать в водные объекты при производстве, хранении, транспортировании, использовании какой-либо продукции в промышленности, сельском хозяйстве и в быту, мигрировать в воду из контактирующих с ней материалов, оборудования и реагентов, или каким-то другим путем, включая аварийные ситуации, *делается заключение о необходимости обоснования ПДК этого вещества в воде;*

– если получена достоверная информация, позволяющая дать рекомендации о величине ПДК по аналогии или по действующим зарубежным регламентам, обоснование гигиенического норматива вещества *может быть завершено на стадиях ускоренной оценки или экспресс-эксперимента;*

– если, по данным литературы, вещество относится к особо опасным (например, наркотикам, гормональным препаратам), вызывает выраженные отдаленные эффекты, в частности канцерогенный, мутагенный, тератогенный, *дается рекомендация о запрете на сброс вещества в составе сточных вод.*

Далее переходят ко второй стадии исследований и планированию экспериментов с учетом сведений о физико-химических свойствах и особенностях биологической активности вещества.

Вторая стадия – «ускоренная оценка» – начинается с установления пороговых концентраций по органолептическому ($ПК_{орг}$) и общесанитарному ($ПК_{сан}$) признакам вредности, независимо от степени опасности данного вещества или структурно близких соединений.

Оценивается стабильность и трансформация вещества в обычных условиях, с учетом естественных процессов открытых водных объектов, при нагревании до температуры кипения и под действием факторов, имеющих место при очистке сточных вод и питьевой воды, – хлора, озона, УФИ с применением аналитических, органолептических методов, биотестирования. Определяется класс стабильности вещества по гигиенической классификации (табл. 11.2). Если по результатам исследований стабильности аналитическими или косвенными методами вещество относится к 3-му или 4-му классам мало- или нестабильных веществ, последующая оценка опасности исходного соединения и продуктов трансформации проводится в сравнительном плане на основе схемы этапного нормирования. Выявление продуктов трансформации в большей степени, чем исходное вещество, влияющих на качество воды, может служить основанием для химической идентификации и обоснования гигиенических нормативов отдельных, наиболее гигиенически значимых из этих соединений.

В токсикологических исследованиях определяются параметры острой токсичности – DL_{50}, TL_{50} и др. при пероральном введении, а при наличии информации о выраженной способности вещества проникать через неповрежденную кожу – параметры острой токсичности для кожно-резорбтивного действия. Желательно определение пороговой дозы однократного действия (Lim_{ac}). Полученные данные используются для прогнозирования параметров хронической токсичности вещества – пороговой ($ПД_{хр}$) и максимально недействующей (МНД) доз или концентраций ($ПК_{хр}$, МНК) общетоксического действия в условиях хронического опыта. Величины $ПД_{хр}$, МНД, $ПК_{хр}$ и МНК рассчитываются по экспериментально установленным значениям DL_{50}, TL_{50} и на основе смешанных математических моделей, включающих, наряду с токсикометрическими параметрами, физико-химические, биологические константы или элементы зависимостей «структура – активность». Используются также результаты прогнозирования параметров хронической токсичности на предыдущем этапе схемы. Возможен расчет пороговых доз кожно-резорбтивного действия. По соотношению расчетных $ПК_{хр}$ и экспериментально установленных $ПК_{орг}$ и $ПК_{сан}$ определяется класс опасности вещества.

Исследования могут быть закончены на этой стадии, если:

– вещество относится к хорошо изученному структурному ряду сходных по механизму действия химических соединений, и методы прогноза хронической токсичности основаны на данных репрезентативного ряда нормированных в воде веществ;

– по соотношению расчетных параметров хронической токсичности и экспериментально установленных пороговых концентраций по влиянию на

органолептические свойства воды и санитарный режим водоемов вещество принадлежит к 4-му классу опасности;

– достоверно известно, что вещество не вызывает отдаленных эффектов;

– вещество легко, в течение не более 24 часов, гидролизуется с образованием уже нормированных продуктов трансформации.

При соблюдении этих условий возможно установление ПДК для веществ 4-го класса и ОДУ для веществ 3–4-го классов опасности.

В остальных случаях переходят к третьей стадии исследований, предварительно определяя в условиях острых опытов видовые, половые и возрастные различия чувствительности животных к веществу.

Третья стадия – «экспресс-эксперимент» – предусматривает проведение подострых и экспресс-экспериментальных исследований с последующим прогнозом полученных результатов на более длительные сроки воздействия.

В подострых опытах изучается общетоксический эффект по специфическим и интегральным показателям (с применением функциональных нагрузок) при ежедневном энтеральном введении вещества для всех веществ. В тех случаях, когда острая токсичность при кожно-резорбтивном действии близка или находится на более низком уровне, чем при пероральном введении вещества, оценивается токсичность при поступлении через кожу. Изучаются основные отдаленные эффекты, в том числе:

– гонадотоксический – в конце подострого опыта по функциональным показателям;

– эмбриотоксический – если он может ожидаться по литературным данным или по структурной аналогии;

– мутагенный – в опытах на лабораторных животных (например, по микроядерному тесту).

Кроме того, исследуются кумулятивные свойства загрязняющих веществ, а также процессы накопления веществ в органах и тканях и выведение их и/или метаболитов из организма.

Основная цель подострых опытов – обоснование пороговой дозы подострого эксперимента ($ПД_{ПЭК}$) по общетоксическому действию и пороговых доз по отдаленным эффектам.

Результаты исследований используют для прогнозирования пороговой дозы хронического действия ($ПД_{хр}$) и МНД на основе зависимости «доза – время – эффект» и расчета соотношения пороговых доз подострого опыта по общетоксическому и отдаленным эффектам (табл. 11.2).

Если установлено, что $ПД_{ПЭК}$ *по общетоксическому эффекту значительно ниже (в 10 и более раз) порога отдаленного эффекта, то в условиях хронического опыта отдаленные эффекты можно не изучать.*

На стадии экспресс-эксперимента проводят химическую идентификацию продуктов трансформации нормируемого вещества, если предыдущие исследования свидетельствуют об их значительно более выраженном, чем у исходного вещества, неблагоприятном влиянии на качество воды. Принимается решение о необходимости отдельных экспериментальных исследований с наиболее гигиенически значимым(и) продуктом (продуктами) трансформации для обоснования его (их) гигиенического норматива.

Объем исследований, предусмотренный тремя стадиями схемы, достаточен для обоснования ПДК веществ 3–4-го классов опасности, относящихся к хорошо изученным структурным рядам. Возможно установление ОДУ веществ 2-го класса опасности.

Четвертая стадия – «хронический эксперимент» – является необходимым элементом при оценке токсического действия веществ, отнесенных по результатам первых трех стадий исследований к 1–2-му классам опасности, особенно в случаях выявления у них отдаленных эффектов, а также для надежного нормирования малоизученных соединений 3-го класса опасности. 4-я стадия включает в себя трехмесячный или, в случае нарастания токсического эффекта во времени, большей продолжительности опыт с ежедневным введением вещества (или продуктов его трансформации) животным и предусматривает экспериментальное определение пороговой и недействующей доз изучаемых соединений с учетом их токсико-динамических свойств и видов биологического действия в соответствии с современным уровнем знаний.

Наряду с изучением общетоксического эффекта проводят исследования:

– кожно-резорбтивного действия;
– мутагенного эффекта;
– гонадотоксического эффекта по функциональным и морфологическим показателям, если на предыдущих стадиях схемы эти виды биологического действия были выявлены в тех же дозах, что и общетоксический эффект.

Четырех стадий схемы достаточно для надежного обоснования ПДК большинства веществ 1–3-го классов опасности с учетом коэффициента запаса по основным видам отдаленных эффектов при экстраполяции данных с животных на человека.

Пятая стадия – «специальная» – необходима для чрезвычайно токсичных и высококумулятивных веществ при недостатке информации о характере токсического действия, для веществ 1-го класса опасности, обладающих канцерогенным и атеросклеротическим эффектами, а также для изучения специальных видов биологического действия:

– аллергенного;
– отдаленного нейротоксического;
– эмбриотоксического;
– тератогенного.

Эта стадия включает в себя пожизненные опыты, изучение развивающегося потомства 1-го и 2-го поколений и т.д.

Шестая стадия – «эпидемиологические исследования» – включается в схему при возможности вычленить влияние данного вещества из всего комплекса воздействующих факторов и/или рассчитать зависимость «концентрация – риск». Полученные результаты могут служить основанием для корректировки ПДК с учетом влияния на состояние здоровья населения и условий водопользования в районе ниже сброса сточных вод, содержащих изученное вещество. Стадия позволяет уточнить гигиенические рекомендации к условиям сброса сточных вод на основе аналитического контроля за содержанием вещества и/или продуктов трансформации в воде.

11.3. ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ И ТРАНСФОРМАЦИИ ВЕЩЕСТВ В ВОДНОЙ СРЕДЕ

Цель исследования стабильности и трансформации – выявление образования продуктов трансформации, уточнение класса опасности и величины норматива вещества в воде. Дополнительно эти исследования могут использоваться для выбора методов очистки сточных вод от изучаемого соединения. На рис. 11.1 представлена схема оценки стабильности и трансформации веществ в воде. Она включает минимальный и оптимальный наборы взаимодополняющих факторов.

Поскольку исследования направлены на изучение двух взаимосвязанных показателей: стабильности и трансформации – целесообразна определенная последовательность экспериментов.

Рис. 11.1. Оптимальная и минимальная (*) схемы изучения стабильности и трансформации веществ в воде

Предварительная оценка способности вещества к биохимическому окислению в условиях естественного самоочищения водной среды или на биологических очистных сооружениях может проводиться по динамике БПК. При этом стимуляция БПК в первые – пятые сутки свидетельствует о способности к окислению неадаптированной микрофлорой и кислородом, содержащимися в воде, а проявление стимуляции через 10–15 суток – об окислении за счет микрофлоры второй стадии минерализации или о возможности развития адаптированной микрофлоры, окисляющей это вещество.

На основании динамики БПК дается качественная оценка стабильности (из-за невозможности стандартизировать состав микрофлоры).

Если результаты изучения БПК свидетельствуют о способности вещества к трансформации, проводятся исследования в модельных водоемах, в которые помещаются растворы вещества в естественной прудовой или речной воде. Можно использовать модельную воду со стандартизованным солевым и микробным составом. Результаты эксперимента выражаются величиной периода полутрансформации ($\tau_{1/2}$). При $\tau_{1/2} \geq 15$ суток необходимо изучить биоразлагаемость вещества в аэробных условиях.

Таблица 11.4

Гигиеническая классификация веществ по стабильности

Класс стабильности	Естест–венное само–очищение $\tau_{1/2}$	При фикси–рованном вре-мени действия деструк–тирующего фактора (УФО, кипячение и т.п.),% деструк-ции	По биоразлагаемости		Гигиеническая оценка
			$\tau_{1/2}$ индук-ции актив-ного ила, сут.	$\tau_{1/2}$ разложе-ния неадапти-рованным или адаптирован-ным активным илом, ч	
1. Чрезвычайно стабильные ве-щества	> 15 суток	< 40	> 25	> 4,33	Нормирование исходного ве-щества с $К_З$ = = 10, класс опас-ности умень-шается на 1
2. Стабильные вещества	1–15 суток	40–80	3–25	> 1,5–4,33	Нормирование исходного ве-щества с $К_З$ = 5
3. Малостабиль-ные вещества	1–24 часа	81–95	3–10	0,22–1,5	Нормирование исходного ве-щества и про-дуктов его трансформации
4. Нестабильные вещества	< 60 мин	> 95	< 3	<0,22	

Опасность вещества и продуктов его трансформации изучается при действии деструктирующих факторов, применяемых при водоподготовке и приготовлении пищи (ультрафиолетовое облучение, озонирование, хлорирование, кипячение).

Для определения стабильности и трансформации используют следующие методы: *физико-химические; органолептические и биотестирование*. При наличии химико-аналитических методов целесообразно не только количественно установить убыль вещества, но и идентифицировать продукты трансформации. Особенно важно определить, происходит ли разрушение (деструкция) или изменение строения вещества (появление новых радикалов, превращение в соль и т.д.) без разрушения исходной молекулы. Такие изменения требуют особого внимания при оценке опасности продуктов трансформации.

Класс опасности веществ по стабильности определяется последовательно на основании комплексной оценки по табл. 11.4. В качестве лимитирующего показателя стабильности химического агента принимается $\tau_{1/2}$ в модельном водоеме или показатели биоразлагаемости. Оценка опасности продуктов трансформации – по результатам опытов с дополнительными деструктирующими факторами.

Для веществ 3-го и 4-го классов стабильности на первое место выступает сравнительная оценка опасности исходного вещества и продуктов трансформации. Если вещество разлагается с образованием ранее не нормированных в воде компонентов, помимо ПДК исходного соединения обосновываются нормативы и для продуктов его трансформации.

11.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОГОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ПО ВЛИЯНИЮ ВЕЩЕСТВ НА ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВОДЫ

Органолептические свойства воды – воспринимаемая рецепторами человека совокупность показателей качества воды: запах, привкус, окраска, прозрачность (мутность), наличие пленок или пены на поверхности воды, посторонних включений, плавающих примесей, осадка. Многие вредные вещества способны изменять органолептические свойства воды, поэтому более чем для половины изученных веществ эти свойства были определяющими при установлении их ПДК в воде.

Целью изучения влияния веществ на органолептические свойства воды является установление пороговых концентраций ($ПК_{орг}$) по этому признаку вредности с использованием различных методов: полуколичественных – для оценки интенсивности восприятия запаха (привкуса) в баллах и более объективных количественных на основе альтернативных оценок.

Объем исследований зависит от свойств вещества. Если по результатам полуколичественной оценки вещество или продукты его трансформации незначительно изменяют органолептические свойства воды и можно предположить, что органолептический признак вредности не будет лимитирующим в установлении величины ПДК, нет необходимости переходить к количественным методам оценки. Если влияние на один из органолептических показателей заведомо более выражено, необязательно оценивать количественно другие показатели органолептической активности. Оценка запаха с провоцированием хлорирования необходима только в том случае, когда строение и свойства вещества позволяют предположить способность к образованию хлорпроизводных соединений. При образовании продуктов трансформации, не нормированных ранее и обладающих более выраженным, чем исходное вещество, влиянием на органолептические свойства воды, проводятся самостоятельные эксперименты по установлению для них пороговых концентраций по органолептическому признаку вредности.

Оценка интенсивности изменений органолептических свойств осуществляется людьми (дегустаторами), предпочтительно специалистами, имеющими опыт в данной области, нежелательно участие курящих лиц.

В эксперименте используются только безопасные для здоровья человека концентрации, которые выбираются по литературным данным или результатам собственных исследований.

При проведении исследований необходимо соблюдение ряда условий, обеспечивающих получение более объективных данных. Помещение должно

быть хорошо проветрено, без посторонних запахов. Дегустаторы допускаются к оценке воды через 1,5–2 часа после приема пищи, воды.

Предварительно они должны быть ознакомлены с характером запаха и привкуса исследуемой воды. Характер запаха определяется при температуре 20° и 60°С, привкуса – при 20° и 40°С. Запах характеризуется качественно в зависимости от его вида, например, ароматический, нефтепродуктов, гнилостный, землистый и др.

Для определения привкуса воды допускается приготовление анализируемого вещества в любых емкостях. 10–15 мл исследуемой воды набирается в рот и задерживается на 3–5 сек (как, например, при дегустации вина), затем воду удаляют из полости рта. Качественно характеризуется вкус воды: соленый, кислый, горький, сладкий, или привкус: щелочной, терпкий, затхлый, металлический и т.д. Интервал между определениями – не менее 2–3 мин.

Определение пороговых концентраций по запаху (привкусу) проводится при различных концентрациях вещества в воде. Исследования выполняются в две стадии.

На предварительной стадии применяется метод оценки запаха (привкуса) в баллах. С этой целью готовится исходный истинный раствор вещества, обладающий отчетливым запахом или привкусом. Ряд исследуемых образцов готовится путем последовательного разведения каждой пробы в 2 раза. Определение ведут в направлении от меньшей концентрации к наибольшей в ряду исследуемых проб, сопоставляя каждый образец с контрольной пробой. Опыты проводят в несколько серий с различными концентрациями вещества. Группа дегустаторов должна состоять не менее чем из пяти – семи человек.

Интенсивность запаха (или привкуса) оценивается по соответствующей шкале (табл. 11.5).

Таблица 11.5

Шкала интенсивности запаха (привкуса)

Характер проявления	Оценка интенсивности, баллы
Не ощущается	0
Не ощущается населением, но обнаруживается опытным дегустатором	1
Замечается населением, если обратить на это его внимание	2
Легко обнаруживается и вызывает неодобрительный отзыв о воде	3
Обращает на себя внимание и заставляет воздерживаться от питья	4
Настолько сильный, что делает воду непригодной для употребления	5

На основании исходных данных рассчитывают среднегеометрические концентрации, соответствующие 1 и 2 баллам. За пороговую концентрацию рекомендуется принимать нижнюю доверительную границу средней величины, которая обеспечивает 95%-ную достоверность. Аналогичные расчеты применимы и для оценки влияния веществ на привкус воды. Критерием гигиенического нормирования веществ является порог восприятия запаха (привкуса),

соответствующий 1 баллу. Если в пределах растворимости вещества интенсивность запаха (привкуса) не превышает 1–2 баллов, исследования заканчиваются на первой стадии, а в результатах указывается: пороговая концентрация вещества по влиянию на запах (привкус) воды выше его концентрации на пределе растворимости.

11.5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ УСТАНОВЛЕНИЕ ПОРОГОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ПО ВЛИЯНИЮ НА ПРОЦЕССЫ САМООЧИЩЕНИЯ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

Санитарный режим водных объектов в зонах влияния выбросов сточных вод определяется интенсивностью процессов естественного самоочищения, в ходе которых происходит потребление кислорода, развитие и отмирание сапрофитной и патогенной микрофлоры, трансформация и минерализация органических соединений.

В качестве основного показателя общего санитарного состояния водоемов принимают показатель биохимического потребления кислорода (БПК) за 20 сут. – $БПК_{полн}$. По характеру воздействия на БПК вредные вещества могут быть разделены на 3 группы: инертные по их влиянию на процесс БПК, угнетающие процессы БПК и повышающие уровень БПК. Практический интерес представляют 2 последние группы. Рассмотрим этот вопрос подробнее.

В природной воде водоемов всегда присутствуют органические вещества. Их концентрации могут быть иногда очень малы (например, в родниковых и талых водах). Природными источниками органических веществ являются разрушающиеся останки организмов растительного и животного происхождения, как живших в воде, так и попавших в водоем с листвы, по воздуху, с берегов и т.п. Кроме природных, существуют также техногенные источники органических веществ: транспортные предприятия (нефтепродукты), целлюлозно–бумажные и лесоперерабатывающие комбинаты (лигнины), мясокомбинаты (белковые соединения), сельскохозяйственные и фекальные стоки и т.д. Органические загрязнения попадают в водоем разными путями, главным образом со сточными водами и дождевыми поверхностными смывами с почвы.

В естественных условиях находящиеся в воде органические вещества разрушаются бактериями, претерпевая аэробное биохимическое окисление с образованием двуокиси углерода. При этом на окисление потребляется растворенный в воде кислород (РК). В водоемах с большим содержанием органических веществ большая часть РК потребляется на биохимическое окисление, лишая, таким образом, кислорода другие организмы. При этом увеличивается количество организмов, более устойчивых к низкому содержанию РК, исчезают кислородолюбивые виды и появляются виды, терпимые к дефициту кислорода. Таким образом, в процессе биохимического окисления органических веществ в воде происходит уменьшение концентрации РК, и эта убыль косвенно является мерой содержания в воде органических веществ. Соответствующий показатель качества воды, характеризующий суммарное содержа-

ние в воде органических веществ, и называется биохимическим потреблением кислорода (БПК).

В общем виде процесс биохимического потребления кислорода происходит в 2 стадии: первая – окисление нестойких органических соединений – развивается довольно быстро и носит экспоненциальный характер; вторая – окисление стойких органических веществ – протекает в природных водах медленнее и, как правило, линейно. Интенсификация второй стадии потребления кислорода в скляночном опыте означает наступление активации окисления азотсодержащих веществ или адаптации микрофлоры к ассимиляции изучаемого вещества.

Обычно определяют БПК за 5 суток инкубации ($БПК_5$), однако содержание некоторых соединений более информативно характеризуется величиной БПК за 10 суток или за период полного окисления ($БПК_{10}$ или БПКполн. соответственно). Величина БПК увеличивается со временем, достигая некоторого максимального значения – $БПК_{полн}$, причем, как уже говорилось, загрязнители различной природы могут повышать (понижать) значение БПК. Динамика биохимического потребления кислорода при окислении органических веществ в воде приведена на рис. 11.2.

Рис. 11.2. Динамика биохимического потребления кислорода: *а* – легкоокисляющиеся («биологически мягкие») вещества – сахара, формальдегид, спирты, фенолы и т.п.; *в* – нормально окисляющиеся вещества – нафтолы, крезолы, анионогенные ПАВ, сульфанол и т.п.; *с* – тяжело окисляющиеся («биологически жесткие») вещества – неионогенные ПАВ, гидрохинон и т.п.

Таким образом, БПК – количество кислорода в миллиграммах, требуемое для окисления находящихся в 1 л воды органических веществ в аэробных условиях, без доступа света, при 20°С, за определенный период в результате протекающих в воде биохимических процессов. Ориентировочно принимают, что $БПК_5$ составляет около 70% $БПК_{полн}$, но может составлять от 10 до 90% в зависимости от окисляющегося вещества.

Особенностью биохимического окисления органических веществ в воде является сопутствующий ему процесс нитрификации, искажающий характер потребления кислорода (рис. 11.3).

Рис. 11.3. Изменение характера потребления кислорода при нитрификации

Нитрификация протекает под воздействием особых нитрифицирующих бактерий – *Nitrozomonas*, *Nitrobacter* и др. Эти бактерии обеспечивают окисление азотсодержащих соединений, которые обычно присутствуют в загрязненных природных и некоторых сточных водах, и тем самым способствуют превращению азота сначала из аммонийной в нитритную, а затем и нитратную формы. Соответствующие процессы описываются уравнениями:

$$2NH_4^+ + 3O_2 = 2HNO_2 + 2H_2O + 2H^+ + Q,$$

$$2HNO_2 + O_2 = 2HNO_3 + Q,$$

где Q – энергия, высвобождающаяся при реакциях.

Количество кислорода, пошедшее на нитрификацию, может в несколько раз превышать количество кислорода, требуемого для биохимического окисления органических углеродсодержащих соединений. Начало нитрификации можно зафиксировать по минимуму на графике суточных приращений БПК за период инкубации. Нитрификация начинается приблизительно на 7-е сутки инкубации (рис. 11.3), поэтому при определении БПК за 10 и более суток необходимо вводить в пробу специальные вещества – ингибиторы, подавляющие жизнедеятельность нитрифицирующих бактерий, но не влияющие на обычную микрофлору (т.е. на бактерии-окислители органических соединений). В качестве ингибитора применяют тиомочевину (тиокарбамид), который вводят в пробу либо в разбавляющую воду в концентрации 0,5 мг/мл.

Когда влияние изучаемого вещества сводится к угнетению процесса БПК, можно ограничиться определением динамики БПК в течение, примерно, 5 суток ($БПК_5$). Угнетение процесса самоочищения воды от органических загрязнений даже в течение одних суток может привести к распространению зоны загрязнения водоема на значительное расстояние, поэтому в этом можно ограничиться более коротким (5–7 дней) сроком наблюдения.

Целью экспериментального гигиенического исследования влияния вещества на процессы естественного самоочищения водных объектов является обобщенная оценка интенсивности и направленности взаимосвязанных фаз биохимического окисления естественных органических веществ (БПК, аммонификации, нитрификации, развития и отмирания микрофлоры), обоснование

пороговых концентраций вещества по общесанитарному признаку вредности ($ПК_{сан}$).

Объем исследования дифференцируется в зависимости от задач и результатов комплексной оценки токсиколого-гигиенических свойств веществ.

Проводятся исследования БПК за 5 (7) суток в динамике: тотчас, через 1, 3 и 5 (7) суток и определяется $ПК_{сан}$.

После установления $ПК_{орг}$ и $ПК_{хр}$ по санитарно-токсикологическому признаку вредности они сопоставляются с $ПК_{сан}$ по $БПК_5$ ($БПК_7$).

При $ПК_{сан}$ / $ПК_{орг}$, $ПК_{сан}$ / $ПК_{хр} \geq 1$ исследования процессов самоочищения могут считаться завершенными.

При $ПК_{сан}$ / $ПК_{орг}$, $ПК_{сан}$ / $ПК_{хр} < 1$ необходимы уточняющие исследования с изучением влияния веществ на динамику содержания аммиака, нитритов и нитратов в воде модельных водоемов. При стимуляции БПК необходимо продолжить наблюдения на 7–10–15–20-е сутки.

Для уточнения характера влияния вещества на процессы естественного самоочищения в качестве дополнительных могут применяться методы исследования динамики развития и отмирания микрофлоры. Дополнительные исследования в модельных водоемах со стандартизованной водой позволят получить представление о воспроизводимости результатов.

Высокая вариабельность процессов самоочищения не позволяет принимать во внимание отклонения от контроля < 15%. С гигиенических позиций процессы ингибирования самоочищения более опасны, чем стимуляция. Поэтому необходима дифференциация критериев вредности в зависимости от направленности нарушения первой стадии минерализации. *При ее ингибировании за пороговую принимается концентрация вещества, вызывающая угнетение БПК на 15 %, а при стимуляции – на 20 %.* При преимущественном влиянии вещества на *вторую стадию минерализации критерием пороговой дозы является 15%-ное отклонение от контроля.*

Для уточнения величин пороговых концентраций при стимуляции БПК можно определить, сколько в процессе биохимического окисления приходится кислорода на 1 мг изучаемого вещества:

$$A = \frac{БПК_х - БПК_к}{C}, \qquad (11.1)$$

где A – количество кислорода на 1 мг изучаемого вещества; $БПК_х$ – БПК в опыте, последний срок наблюдения; $БПК_к$ – БПК в контроле в последний срок наблюдения; C – концентрация изучаемого вещества (мг/л).

Правилами охраны поверхностных вод от загрязнения предусмотрено, что в воде водных объектов должен содержаться растворенный кислород в количестве не менее 4–6 мг/л. Поэтому применительно к натурным условиям при благоприятном санитарном режиме водного объекта без заметного ущерба для санитарного состояния водного объекта может быть использовано не более 1–2 мг/л кислорода. Тогда пороговая концентрация вещества ориентировочно может быть рассчитана по формуле:

$$ПК_{сан.} = \frac{2}{A}, \qquad (11.2)$$

где A – количество кислорода на 1 мг изучаемого вещества.

Поскольку эта формула не в полной мере отражает реальное влияние сточных вод на санитарный режим водных объектов, предложена более точная формула:

$$БПК_{полн.к} = \frac{БПК_{оп} \cdot q + БПК_{к} \cdot Q \cdot 10_{x}^{-x}}{\alpha \cdot Q + q}, \qquad (11.3)$$

где Q – расход воды водного объекта, м^3/с; q – расход сточных вод, в составе которых сбрасывается нормируемое соединение, м^3/с; α – коэффициент смешения сточных вод с водой водного объекта.

11.6. УСТАНОВЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ТОКСИЧНОСТИ ВЕЩЕСТВ В ОСТРЫХ ОПЫТАХ НА ЖИВОТНЫХ

Вещество изучается при введении в желудок и нанесении на кожу. Токсичность при внутрижелудочном введении определяется в опытах на животных (белых мышах массой 18–24 г, белых крысах массой 180–240 г, половозрелых морских свинках массой 350–500 г, кроликах массой 1,5–3,0 кг). Выбор доз для исследования осуществляется по аналогии с данными о токсичности близких по структуре веществ, либо расчетным путем по математическим моделям, а также в ориентировочном эксперименте. Ориентировочная LD может быть установлена методом одной-двух точек или путем испытания ряда последовательных доз на 1–2 подопытных животных. Количество животных в развернутом опыте должно быть достаточным для статистических расчетов. Каждая доза испытывается не менее чем на 10 белых мышах, белых крысах, на 6 морских свинках, кроликах и других животных.

Вещество в каждой из выбранных доз вводится внутрижелудочно с помощью зонда однократно в водном растворе, а при малой растворимости в воде – в растительном масле. Может быть применен «универсальный» растворитель – диметилсульфоксид. Труднорастворимые, вязкие, смоло–, порошкообразные вещества можно вводить в виде взвесей или эмульсии в яичном желтке, 1–2%-ном растворе крахмала, с добавлением нетоксичных поверхностно-активных веществ. В отдельных случаях допустимо использование других растворителей: этанола, глицерина, полипропиленгликоля и т.п. Обязательное условие – введение контрольным животным используемого растворителя в эквивалентных количествах.

Для создания необходимых доз предпочтительнее вводить разные объемы раствора вещества одной концентрации. Вместе с тем объем водных растворов не должен превышать 1–1,5%, а масляных – 0,5–1% от веса тела. Вещество вводится через 2–3 часа после кормления. Через 3–4 часа после введения вещества допускается очередное кормление животных. Максимальная вводимая доза в желудок – 10 г/кг. При испытании малотоксичных веществ, не при-

водящих к гибели при однократном введении, допустимо вводить вещество несколько раз в максимально возможной концентрации в объеме ≤5%, а масляные растворы до 2% от веса тела с интервалом между введениями не менее 1,5 часов. Следует учитывать и предотвращать возможное местное раздражающее действие веществ, испытывать нейтрализованные растворы при условии, что это не приведет к разрушению и трансформации структурной части молекулы, определяющей токсичность вещества. Наблюдение за животными продолжается в течение 14 дней после введения вещества. Фиксируется время гибели каждого животного (в первые сутки – в часах), общее количество погибших. Подробно описывается клиническая картина отравления, желательно – морфологические изменения внутренних органов и тканей. Делаются предварительные выводы о характере токсического действия вещества. Токсичность при накожном нанесении изучается согласно соответствующим методическим указаниям.

Расчет $ЛД_{50}$ и доверительного интервала может проводиться любым из статистических методов, т.к. различия между величинами по результатам расчета значительно меньше, чем по экспериментальным данным, полученным в разных условиях. Более точным считается метод Литчфилда – Уилкоксона.

Для веществ из малоизученных классов необходимо определять сравнительную половую и видовую чувствительность на 4 видах лабораторных животных, для остальных веществ – на 2 видах. Определение острой токсичности на морских свинках, кроликах, кошках (в особых случаях) допустимо методом 1–2 точек. Метод дает возможность рассчитать ошибку и доверительные интервалы величин DL_{50}.

При оценке результатов острых опытов могут использоваться классификации токсичности, представленные в табл. 11.6.

Таблица 11.6

Классификация токсичности по смертельным эффектам

Показатели токсикометрии, мг/кг	**Классы токсичности**			
	1	**2**	**3**	**4**
1. DL_{50} в/ж	< 100	100–1000	1001–10000	> 10000
2. DL_{50} при нанесении на кожу	< 100	100–500	501–2500	> 2500

Дополнительно по данным острого опыта рассчитываются параметры, дающие первое представление о способности веществ к кумуляции: среднее время гибели (TL_{50}) и индекс кумуляции.

Для определения TL_{50} подсчитывается суммарное время гибели животных от каждой из испытанных доз ($\sum t$), из которых находят среднее время гибели одного животного (t_n) по формуле:

$$t = \sum t / n, \qquad (11.4)$$

где n – общее количество животных, погибших от данной дозы. TL_{50} рассчитывают теми же статистическими методами, что и среднесмертельную дозу, или строят прямоугольную систему координат (в логарифмическом масштабе), откладывая по оси абсцисс время гибели животных (в часах),

а по оси ординат – изученные в опыте дозы вещества (в мг/кг). На график наносят точки, соответствующие ранее найденным значениям t_n, и через них проводят прямую, по которой находят TL_{50} – время гибели животных от дозы, равной DL_{50}.

По табл. 11.7 определяют, к какому классу по способности к кумуляции относится вещество. Если TL_{50} находится в пределах 12–48 часов, допустимо применять расчетные уравнения для прогноза $ПД_{хр}$ и МНД.

Для определения индекса кумуляции рассчитываются величины DL_{50} за 1 сутки ($Д_1$) и по результатам гибели животных в течение всех 14 дней опыта ($Д_2$). Затем определяют I:

$$I = I - Д_2/Д_1. \qquad (11.5)$$

Классификация способности веществ к кумуляции и ориентировочные величины МНД приведены в табл. 11.7.

Таблица 11.7

Классификация веществ по способности к кумуляции в острых опытах

Степень кумуляции	Показатели кумуляции		Прогноз МНД по индексу кумуляции
	I	TL_{50}, ч	
Сверхкумуляция	> 0,5	> 48	1/250000 DL_{50}
Сильная	0,1–0,5	> 24–48	1/50000 DL_{50}
Средняя	< 0,1	12–24	1/10000 DL_{50}
Слабая	0	< 12	1/2000 DL_{50}

11.7. ПОРОГ ВРЕДНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ПОСТУПЛЕНИИ ВЕЩЕСТВА В ОРГАНИЗМ

Целями исследований являются определение верхнего предела доз для подострого эксперимента и оптимального времени наблюдения после введения вещества; получения характеристики кумулятивных свойств вещества; расчёт зоны острого действия.

Порог однократного действия определяется на белых крысах по интегральным и специфическим показателям с обязательным определением изменений в динамике в течение суток (или нескольких суток – в зависимости от TL_{50}). Время первого определения устанавливается, исходя из клинической картины отравления в остром опыте, но не позднее двух часов, затем, например, через 4–6–12–24 часа после затравки, а также через 2–4 и 8 дней после нее. Возможны и другие сроки наблюдения с учетом токсикодинамики и/или токсикокинетики. Порог однократного действия может быть установлен эмпирически или рассчитан как вероятностная величина (Lim_{ac}) или дополнен результатами токсикокинетических исследований.

На основании исследования зависимости «время – эффект» можно определить время полуубыли (τ) регистрируемого эффекта по формуле:

$$\tau = \frac{-0,693}{2,3} \cdot \frac{(t_i)^2 - n(t_i)^2}{(t_i)(\lg E_i)^{-n}(\mathrm{TL}_{50}\lg E_i)}, \qquad (11.6)$$

где E_i – среднее значение степени эффекта (в % к параллельному контролю) в моменты времени t_i (i–1; 2; ...; n); 0,693 – натуральный логарифм из 2; 2,3 – коэффициент перехода от натуральных логарифмов к десятичным.

Степень кумуляции определяют по величине τ: при $\tau < 12$, 12–24, 24–48 и > 48 часов кумулятивные свойства оценивают как слабые, средние, сильные и очень выраженные соответственно.

Пример. Определение пороговой дозы однократного действия в опыте с ацетонциангидрином (АЦГ). При выборе доз и сроков наблюдения исходили из результатов острого опыта: $ЛД_{50}$ = 18,5 (16,9 : 20,3) мг/кг, TL_{50} = 85 мин. Первые признаки отравления появлялись через 10–15 мин после введения ацетонциангидрина. Эти данные свидетельствуют о быстром развитии токсического процесса и слабо выраженной кумуляции. Поэтому выбран минимальный интервал между дозами. Вещество вводилось однократно белым крысам в дозах, составляющих 1/5, 1/10, 1/15, 1/20 и 1/45 DL_{50}. Отбор исследуемого материала (кровь, печень) производили через 15, 30 мин, 1, 2, 4 и 6 часов после введения АЦГ. Контролем служили интактные животные. Поскольку механизм токсического действия цианидов хорошо известен, исследовались только специфические показатели: содержание оксигемоглобина и роданидов в крови, активность цитохромоксидазы печени. Установлено, что максимальный токсический эффект (пик содержания оксигемоглобина и снижение активности цитохромоксидазы) для доз 1/5, 1/10, 1/15 DL_{50} наблюдается через 30 мин после введения вещества, а с уменьшением дозы (1/20, 1/45 DL_{50}) срок достижения наибольших изменений увеличивается до 1 часа. Получены кривые зависимости «время – эффект» для разных доз.

По наиболее чувствительному показателю (изменению активности цитохромоксидазы) установлен порог однократного действия Lim_{ac}, равный 1/45 DL_{50} (0,41 мг/кг). Зона острого действия DL_{50}/ Lim_{ac} = 45. Это доказывает, что способность АЦГ к кумуляции слабо выражена.

Исходя из полученных данных, для подострого эксперимента были выбраны дозы < Lim_{ac}, т.е. 0,4; 0,08; 0,015 мг/кг с пятикратным шагом между ними.

11.8. ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ВЕЩЕСТВА НА ОРГАНИЗМ В УСЛОВИЯХ ПОДОСТРОГО ОПЫТА

Подострые опыты могут проводиться с целью выявления различными методами способности веществ к кумуляции, получения данных для обоснования класса опасности вещества, а также необходимости оценки хронической токсичности, выбора доз и тестов при планировании хронического опыта.

Подострый эксперимент является центральным звеном в гигиенических исследованиях, от его результатов зависит решение вопроса о необходимости

и целесообразности дальнейших исследований вещества и их планирование. В условиях подострого опыта могут оцениваться и продукты трансформации веществ 3-го и 4-го классов стабильности, в случае если они не изучались ранее или химически не идентифицированы, а в острых экспериментах оказались токсичнее исходного соединения. Наибольшую информативную ценность представляет подострый эксперимент, направленный на установление параметров токсикометрии в условиях, вызывающих не явные признаки нарушения жизнедеятельности организма, а изменения функциональных показателей, близкие к пороговым (в отличие от методов оценки кумуляции Ю.С. Кагана и В.В. Станкевича; Р. Лима и др.; Б.М. Штабского, использующих дозы, приводящие к смертельному эффекту).

Подострый эксперимент позволяет:

– изучить токсикодинамику в рамках зависимости «доза – эффект» во времени;

– определить характер (механизм) токсического действия; наиболее поражаемые функции, органы, системы организма;

– установить пороговую дозу подострого эксперимента ($ПД_{ПЭК}$);

выявить способность вещества к кумуляции;

– рассчитать зону кумулятивного действия;

– установить класс опасности по кумуляции;

– прогнозировать пороговую дозу хронического действия ($ПД_{хр}$).

В эксперименте изучается не менее 3 доз вещества. Выбор доз осуществляется на основе прогноза $ПД_{хр}$ и МНД с использованием математических моделей, а также результатов определения Lim_{ac}. Шаг между дозами определяется кумулятивностью вещества: 3–5-кратный – для 3–4-го классов, 5–10-кратный – для 1–2-го классов кумуляции.

Исследования проводятся, как правило, на белых крысах. При выраженных (более 5 раз) различиях в видовой чувствительности обязательны дополнительные исследования на наиболее чувствительном виде животных. Вид подопытных животных определяется также особенностью биологических эффектов изучаемого вещества. Например, для изучения аллергенного эффекта используются морские свинки, для выявления мутагенного эффекта – специальные линии белых мышей, для определения влияния на микрофлору кишечника – белые крысы и т.п.

Вещества вводятся в виде водного раствора внутрижелудочно (белые крысы) или перорально (кролики, морские свинки). Допустимо введение веществ в растительном масле или растворе крахмала. Если вещество хорошо растворяется в воде и не вызывает изменения ее органолептических свойств, предпочтительнее использовать автопоилки с ежедневным определением количества выпитого раствора. При понижении водопотребления по сравнению с контрольными животными следует переходить на активное запаивание (внутрижелудочное введение). Введение веществ – ежедневное, включая выходные дни.

Длительность опыта – не менее 30 дней. Однако опыт может быть продлен до 2–3 месяцев, если известно, что изучаемый препарат вызывает изменение замедленно реагирующих систем, например, липидного обмена, костной системы, обмена кальция и т.п.

Точность и надежность обоснования гигиенического норматива в основном определяется адекватностью функциональных показателей, выбранных для оценки состояния организма животных в подостром (а затем в хроническом) эксперименте. Поскольку невозможно рекомендовать универсального перечня таких показателей в силу специфичности действия отдельных веществ на организм, комплекс изучаемых показателей должен быть тщательно обоснован в каждом подостром эксперименте. Выбор показателей осуществляется с учетом всех имеющихся данных о механизме токсического действия вещества и его структурных аналогов. Желательно, чтобы выбранные показатели отражали состояние крови, печени, почек, центральной нервной системы, функции наиболее поражаемых органов.

После снятия фоновых значений показателей наблюдения проводятся на 5-, 10-, 20-е и 30-е сутки опыта. Если не определялся порог однократного действия, необходимо исследование в 1-е сутки. Если продолжительность опыта превышает 30 дней, последующие снятия значений показателей функционального состояния организма животных проводятся каждые 2 недели.

В подостром опыте применяются дополнительные функциональные (физическая, термическая и т.п.) или материальные (амидопириновая, гексеналовая и т.п.) нагрузки; однократно в конце опыта или через каждые 2 недели. Нагрузка должна в наибольшей мере соответствовать механизму действия вещества.

Наиболее предпочтительна нагрузка изучаемым веществом в конце эксперимента в дозах, превышающих порог однократного действия в 2–5 раз в зависимости от способности к кумуляции.

В конце подострого опыта определяется $ПД_{ПЭК}$ – *доза вещества, при энтеральном поступлении которой в организм в течение 30 дней возникают минимальные, но диагностически значимые изменения функциональных показателей состояния организма животных.* При этом важна дифференциация закономерных и случайных проявлений токсического действия веществ.

Необходимо использовать следующие диагностические критерии $ПД_{ПЭК}$:

– комплексный анализ зависимости «доза – эффект» во времени для не менее 3 доз веществ, различающихся в 3–10 раз;

– учет изменений небольшого числа или даже одного показателя, если он отражает особенности механизма токсического действия, изучаемого или близких по структуре соединений;

– ориентация на минимальные сдвиги значений функциональных показателей, наблюдаемые неоднократно (не менее 2 раз) в течение эксперимента;

– учет тенденции к изменениям, даже при отсутствии статистически достоверных различий с контролем, если они относятся к жизненно важным показателям;

– наличие экспериментально установленной недействующей дозы подострого опыта как дополнительного критерия пороговости.

Статистическими критериями пороговой дозы служат показатели достоверности отличий от контроля (t – критерий Стьюдента, отношения дисперсий по критерию F – критерий Фишера и др.). Необходимо проверять правомерность применения этих критериев, т.е. соответствие изучаемой выборки закону нормального распределения. В противном случае применяются другие методы статистической обработки, в т.ч. непараметрические.

При выборе количественного критерия значимости отклонений от нормы (контроля) (5%, 1%, 0,1%) учитывается биологическая значимость показателя, степень «пластичности», патогенетического соответствия. Кроме того, чем опаснее для жизнедеятельности организма выявленный эффект или чем важнее сфера применения вещества и шире контакт с населением, тем статистически менее значимые сдвиги значений показателя по сравнению с контролем следует принимать во внимание.

Для большей надежности при установлении $ПД_{ПЭК}$, следует применять комплексный диагностический подход с оценкой адаптационных возможностей организма, в частности по реакции на материальную или функциональную нагрузку. Дополнительно могут использоваться также изучение соотношения между показателями индивидуально у каждого животного, учет дискоординации сопряженных функций, определение безвредных доз на основе зависимости «доза – статус организма».

После установления $ПД_{ПЭК}$ определяется способность веществ к кумуляции по отношению DL_{50} / $ПД_{ПЭК}$, класс опасности и коэффициент J для прогноза пороговой дозы хронического действия (табл. 11.8). Выбор коэффициента (J_1, J_2, J_3) осуществляется в зависимости от степени изученности характера токсического действия вещества и структурного ряда, к которому оно принадлежит.

Таблица 11.8

Оценка опасности и прогноз пороговой дозы веществ по результатам подострого опыта

Классы опасности	**Кумуляция по отношению $DL_{50}/ПД_{ПЭК}$**	**Коэффициент для расчета $ПД_{хр.}$ по $ПД_{ПЭК}$**		
		J_1	J_2	J_3
Чрезвычайно опасные	≥ 10000	20	100	не прим.
Высокоопасные	≥ 1000	5	10	100
Умеренно опасные	≥ 100	3	5	25
Малоопасные	≥ 10	2	3	10

11.9. ПРОВЕДЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО САНИТАРНО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ОПЫТА

Цель хронического опыта – установить пороговую и максимальную недействующую дозы веществ при длительном воздействии на организм.

Основным ориентиром при выборе доз для хронического эксперимента является расчет $ПД_{хр}$ по $ПД_{ПЭК}$ (табл. 11.9).

Длительность опыта обычно составляет 3 месяца, но в зависимости от способности вещества к кумуляции, измененных показателей и задач исследований продлевается до 6–12 месяцев Определение показателей в течение первого месяца – 2–3 раза, затем – ежемесячно. При необходимости по специальным методикам изучаются отделенные эффекты (канцерогенный, аллергенный и др.)

На основании хронического эксперимента определяется пороговая доза ($ПД_{хр}$) по критериям, приведенным в табл. 11.9. Дополнительный принцип – сопоставимость результатов подострого и хронического экспериментов.

Расчет МНД хронического опыта проводится исходя из величины $ПД_{хр}$. с использованием коэффициентов запаса в зависимости от выраженности кумулятивных свойств и способности вещества вызывать отдаленные эффекты по табл. 11.9. Определяется также допустимая суточная доза (ДСД) при пероральном поступлении. Если вещество является летучим, легко проникающим через кожу и достаточно широко распространено в окружающей среде, МНД устанавливается в процентах от допустимой суточной дозы в соответствии с существующими методиками и рекомендациями.

Таблица 11.9

Коэффициенты запаса расчета ($К_З$) для МНД по величине ПД

Класс опасности	$К_З$ в зависимости от кумуляции		$К_З$ в зависимости от способности вызывать отдаленные эффекты		
	DL_{50}/ПД	$К_З$ от ПД общетоксич. действия	Z_{sp}	$К_З$ от ПД по влиянию на гонады	$К_З$ от ПД по влиянию на эмбриогенез
Чрезвычайно опасные вещества	$\geq 10^5$	10	1	10	10
Высокоопасные вещества	10^5–10^3	5	0,1–1,0	5	
Умеренно опасные вещества	10^3–10^2	3	0,01–0,1	3	
Малоопасные вещества	$\leq 10^2$	3	0,01	3	

11.10. ОБОСНОВАНИЕ ВЕЛИЧИНЫ ПДК (ОДУ) ВЕЩЕСТВ В ВОДЕ

Для обоснования величины ПДК (ОДУ) исследуемого вещества в воде сопоставляются пороговые величины по органолептическому и общесанитарному признакам вредности и максимальная недействующая концентрация по токсикологическому признаку вредности (МНК).

МНК рассчитывается из величины МНД с учетом среднего веса человека и суточного водопотребления, включающего питьевую и используемую для приготовления пищи (чая, кофе) воду, по формуле:

$$\text{МНК(мг/л)} = \frac{\text{МНД(мг/кг)} \cdot M\,(\text{кг})}{V\,(\text{л})} = \text{МНД} \cdot K\,, \qquad (11.7)$$

где M – средняя масса взрослого человека; V – объем суточного водопотребления; K – обобщенный коэффициент пересчета МНК по МНД.

Средний вес взрослого человека равен 60 кг, а суточное водопотребление составляет 3 л. С учетом этих количественных соотношений, МНК рассчитывают по формуле:

$$\text{МНК} = \text{МНД} \cdot 20. \qquad (11.8)$$

Величина МНК сопоставляется с пороговыми концентрациями по органолептическому и общесанитарным признакам вредности, и наименьшая из них принимается в качестве ПДК (ОДУ) с указанием соответствующего (органолептического, общесанитарного, санитарно-токсикологического) признака вредности.

Если вещество относится к 3-му или 4-му классу стабильности и выявлено образование продуктов трансформации в большей степени, чем исходное соединение, влияющих на качество воды, то:

– при неустановленной химической природе продуктов трансформации нормируется исходное вещество и вводится поправочный коэффициент, снижающий ПДК исходного вещества во столько раз, во сколько повышается опасность продуктов трансформации по сравнению с этим веществом;

– для химически идентифицированных продуктов трансформации должны быть обоснованы собственные гигиенические нормативы.

Класс опасности устанавливается по табл. 11.8 с учетом корректив, вносимых согласно классу стабильности (табл 11.4).

Для чрезвычайно стабильных веществ, способных к биоаккумуляции в трофических цепях, класс опасности по токсико-гигиеническим показателям изменяется на единицу. Например, вещество 2-го класса опасности, но чрезвычайно стабильное (1-й класс стабильности) относят к 1-му классу опасности. При установлении величины K_3 вводится дополнительный коэффициент запаса, равный 10.

Если вещество отнесено к стабильным (2-й класс), класс опасности остается неизменным, но в величину ПДК вводится дополнительный коэффициент запаса $K_3 = 5$.

11.11. НОРМИРОВАНИЕ ПРЕПАРАТОВ СМЕШАННОГО СОСТАВА

Следует различать смеси веществ, поступающих в воду из различных источников (имеющих различное происхождение и в силу этого образующих смеси переменного состава); смеси, формирующиеся непосредственно в воде из исходно одиночных соединений в результате процессов трансформации (включая диссоциацию электролитов), а также технологические смеси заводского изготовления или природного происхождения, состав которых регламентируется техническими условиями (ТУ), ГОСТами, официальными формами лекарств и др. (смеси фиксированного или относительно постоянного количественного состава).

Гигиенически значимые характеристики многокомпонентных технологических смесей могут зависеть от наличия в составе таких компонентов, относительное содержание которых не превышает десятых долей процента. Поэтому технологические смеси подлежат изучению и регламентации в воде как самостоятельный объект гигиенического нормирования.

Согласно действующему законодательству, регламентация смесей веществ в воде водных объектов может быть проведена лишь при наличии ТУ и ГОСТов на их состав (фармакологических прописей). В этих документах, кроме того, должны быть приведены характеристики агрегатного состояния и стабильности смеси, ее растворимости в воде, другие известные физико-химические константы смеси и, по возможности, ее компонентов.

Технологические смеси постоянного (фиксированного) состава подлежат изучению как одно вещество, с установлением суммарных пороговых концентраций веществ, действующих в составе смеси, по влиянию на органолептические свойства воды и санитарный режим водоемов, а также суммарных максимальных неэффективных доз по общетоксическим и специфическим эффектам. На этой основе устанавливают, как обычно, лимитирующий признак вредности и класс опасности изучаемой смеси. Суммарная нормативная величина, найденная по лимитирующему признаку вредности, предназначена для использования при решении вопросов предупредительного санитарного надзора, для расчета ПДС и т.д., т.е. может использоваться в качестве ОДУ.

Для обоснования ПДК требуется решить вопрос о выборе соответствующих индикаторных веществ. Под индикаторным веществом понимается компонент смеси, по которому следует проводить аналитический контроль за реальным содержанием нормируемой смеси в воде в пределах суммарного норматива. Выбор индикаторного вещества проводится на основе критериев и принципов, приведенных ниже в порядке приоритетности:

– выявление наиболее токсичных и опасных компонентов и/или продуктов их трансформации;

– изучение сравнительной стабильности компонентов смеси в воде, в т.ч. по показателям биоразлагаемости;

– учет относительной массы (процентного содержания) веществ, входящих в состав смеси;

– учет компонентов, определяющих технологическое предназначение препарата;

– наличие метода определения индикаторного вещества в воде.

Учитывают также характеристики биологической активности компонентов по данным литературы или по химической структуре, общие закономерности биотрансформации в организме и превращений в воде.

Особое внимание уделяется продуктам трансформации, которые могут оказаться более токсичными и опасными, чем компоненты смеси. Если в состав смеси входят одно или более веществ, ранее не изученных по токсикологическим и гигиеническим критериям, необходимо дополнительное изучение этих веществ с целью обоснования ПДК или ОДУ – особенно тогда, когда такое вещество может выступать как индикатор смеси.

В составе суммарной нормативной величины (ПДК, ОДУ) рассчитывают удельные нормативы компонентов пропорционально их процентному содержанию в исходном составе смеси с учетом долевого вклада в расчете на весовое значение суммарного норматива (например, суммарный норматив смеси, состоящей из 80% вещества А и 20% вещества В, составляет 0,5 мг/л; тогда удельные нормативы этих веществ соответственно равны 0,4 и 0,1 мг/л). В простейшем случае цель нормирования смеси может быть достигнута тогда, когда удельный норматив индикаторного вещества совпадает с его существующей индивидуальной ПДК (в особенности при одном и том же лимитирующем признаке вредности). Практически совпадающими можно считать значения удельной и индивидуальной ПДК у конкретного вещества, различающиеся между собой не более чем в 3 раза. В остальных случаях целесообразен выбор других индикаторных веществ, исходя из тех же (указанных выше) принципов. В некоторых ситуациях необходимы рекомендации по изменению рецептуры смеси. Когда удельный норматив потенциального индикаторного вещества в 5–10 раз ниже его индивидуальной ПДК, следует изучить относительную роль компонентов в их совокупности для подтверждения аддитивного действия.

Если состав смеси расшифрован не полностью, но все ее компоненты связаны единством происхождения (например, лекарственные средства природного происхождения), такие смеси в принципе могут быть изучены и регламентированы аналогичным образом, но с учетом следующих особенностей:

– целесообразно расширить набор интегральных показателей токсичности;

– обязательно исследовать отдаленные (специфические) проявления токсичности смеси;

– дополнительно может быть изучен характер комбинированного действия веществ (в особенности в тех случаях, когда лимитирующим признаком вредности смеси как таковой является санитарно-токсикологический).

Гигиенические нормативы для препаратов, смесей веществ сложного постоянного состава должны быть внесены в общий перечень ПДК, ОДУ с указанием регламентирующего документа (ТУ, ГОСТ) на состав, суммарной нормативной величины, лимитирующего признака вредности и класса опасности смеси, а также индикаторного вещества (или веществ) и его контрольного уровня.

11.12. КРИТЕРИИ ВЫБОРА ВЕЩЕСТВ, НЕ НУЖДАЮЩИХСЯ В УСТАНОВЛЕНИИ НОРМАТИВОВ

Не нуждаются в установлении нормативов нестабильные вещества (IV класс стабильности), в результате трансформации которых образуются вещества с установленными гигиеническими нормативами. Нормативы не устанавливаются для примесей в смесях постоянного состава, не являющихся ведущими компонентами смеси, и менее опасных, чем другие компоненты, по которым рекомендован контроль за сбросом в водные объекты. Нормативы не устанавливаются для веществ, относящихся к IV классу опасности, которые могут поступать в окружающую среду только с промышленными сточными водами, и если по условиям технологического процесса их содержание в сточных водах не превышает 0,001 мг/л, а также не вызывает изменения органолептических свойств воды. Не нуждаются в установлении нормативов чрезвычайно опасные вещества, относящиеся к гормонам, цитостатикам, аллергенам, отдельным группам антибиотиков, выброс которых в воду водных объектов запрещен.

11.13. КРИТЕРИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЪЕМА И ОЧЕРЕДНОСТИ ИССЛЕДОВАНИЙ, НЕОБХОДИМЫХ ДЛЯ УСКОРЕННОГО ОБОСНОВАНИЯ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ

Для веществ, внедрение которых находится на стадии производственных испытаний, может быть установлен временный гигиенический норматив – ориентировочный допустимый уровень (ОДУ), разработанный на основе расчетных и экспресс-экспериментальных методов прогноза токсичности и применимый только на стадии предупредительного санитарного надзора за проектируемыми или вновь строящимися предприятиями и реконструируемыми очистными сооружениями.

В случае принадлежности вещества к структурному ряду соединений, ПДК которых установлены с учетом канцерогенной или генетической опасности, возможно для гигиенического нормирования использование экстраполяции показателей канцерогенности ближайших структурных аналогов. При структурном подобии вновь регламентируемого соединения (наличие активного в канцерогенном отношении структурного компонента) с канцерогенными веществами, одновременно являющимися мутагенными, обоснование гигиенического норматива проводится по количественной характеристике мутагенной активности в краткосрочных опытах и осуществляется в соответствии с действующими методическими указаниями. При отсутствии данных о мутагенности вещества, подозреваемого в канцерогенной активности, или его аналогов необходимо проверить вновь регламентируемое соединение на наличие цитогенетического эффекта у млекопитающих, и при его обнаружении регламентировать вещество в соответствии с действующими методическими указаниями. При отсутствии цитогенетического эффекта и структурном сходстве со слабыми канцерогенами, а также для веществ, обладающих слабой канце-

рогенной активностью на животных, обоснование норматива производится по общим токсикологическим или иным специфическим характеристикам, а также по аналогии с нормативами веществ сходной структуры. При структурном подобии (наличие активных в мутагенном отношении структур) вновь регламентируемого соединения с веществами, обладающими мутагенным действием, цитогенетическим эффектом на млекопитающих, устанавливается временный гигиенический норматив в соответствии с действующими методическими указаниями. Для неорганических соединений, токсичность которых зависит преимущественно от одного и того же химического элемента, и для органических соединений, близких между собой по химической структуре, характеру действия и степени опасности, рекомендуется устанавливать групповой гигиенический норматив.

Глава 12

ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ВРЕДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ВОДНЫХ ОБЪЕКТАХ РЫБОХОЗЯЙСТВЕННОГО НАЗНАЧЕНИЯ

12.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Нормативы качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения характеризуют пригодность ее для обитания водных биологических ресурсов (далее – водные биоресурсы) и обеспечивают безопасность продукции из них. Показатели состава и свойств естественного природного состояния воды поверхностных водных объектов определяются физическими, химическими, биологическими и иными показателями, соответствующими природным условиям, не затронутым антропогенным воздействием. В связи с широким влиянием различных видов хозяйственной деятельности на водные объекты рыбохозяйственного значения, общие требования к составу и свойствам воды предъявляются к следующим показателям:

- взвешенным веществам;
- плавающим примесям (веществам);
- окраске, запаху и привкусу;
- температуре;
- водородному показателю;
- минерализации воды;
- растворенному кислороду;
- биохимическоому потреблению кислорода (БПК);
- химическим веществам;
- токсичности воды.

Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ устанавливаются по результатам токсикологических исследований этих веществ на тест-объектах разных трофических звеньев водного объекта:

- микроорганизмах,
- фитопланктоне,
- зоопланктоне,
- фитобентосе,
- зообентосе,
- рыбах на разных стадиях развития,

Кроме того, принимаются во внимание результаты оценки влияния вредных веществ на санитарные показатели водной среды; определения стабильности вещества в воде; способности его к накоплению в гидробионтах; исследования генотоксичности. Результатом анализа и обобщения полученных

данных является определение наиболее слабого звена, для которого *максимальная недействующая концентрация* (МНД) вещества оказалась наименьшей. Такое наиболее слабое звено называют также *лимитирующим звеном*, максимальная недействующая концентрация которого определяет ПДК вещества. В свою очередь, исследуемый показатель (численность, биомасса, физиологический или гематологический показатель и проч.), для которого определена максимальная недействующая концентрация, называется *лимитирующим показателем*.

Итогом разработки норматива качества воды в водных объектах рыбохозяйственного назначения является обоснование *предельно допустимой концентрации (ПДК) вредного вещества в воде, которая характеризует его максимально допустимую концентрацию (или его метаболитов) в воде, при которой в водном объекте не возникают последствия, снижающие его рыбохозяйственную ценность (в ближайшее время и в перспективе) или затрудняющие его рыбохозяйственное использование при постоянстве этой концентрации в воде водного объекта.*

Кроме того, в качестве временного норматива, применяемого не более двух лет до установления ПДК вещества в воде водного объекта рыбохозяйственного значения, разрабатывается ориентировочно безопасный уровень воздействия (ОБУВ) вредного вещества, который оценивается на основе экспресс-экспериментальных и расчетных методов токсичности.

В зависимости от характера действия вредного вещества на показатели водной среды или жизнедеятельности различных трофических уровней водных организмов устанавливается *лимитирующий показатель вредности* (ЛПВ) вещества. Так, если вредное вещество оказывает прямое токсическое действие на водные организмы, то ЛПВ характеризуется как *токсикологический* и обозначается «*токс*». В случае нарушения экологических условий, вызванных попаданием вредного вещества в воду водного объекта рыбохозяйственного значения, включающих изменение трофности водных объектов, гидрохимических показателей (содержание в воде кислорода, азота, фосфора, изменение pH), нарушение самоочищения воды (биохимическое потребление кислорода (БПК), численность сапрофитной микрофлоры), ЛПВ характеризуется как *санитарный* и обозначается «*сан»*. При действии вещества как на водные организмы, так и на санитарные показатели водного объекта, ЛПВ характеризуется как *санитарно-токсикологический* и обозначается «*сан-токс»*. Если вещество при попадании в воду образует пленку или пену на поверхности воды, появляются посторонние привкусы и запах воды, наблюдается выпадение осадка, появление опалесценции, мутности и взвешенных веществ, то в этих случаях ЛПВ характеризуется как *органолептический* и обозначается «*орг»*. При этом приводится расшифровка характера изменения органолептических свойств воды (зап. – запах; мутн.– мутность; окр. – окраска; пен. – пена; пл. – пленка; привк. – привкус; оп. – опалесценция и т.д.). Наконец, при ухудшении *органолептических показателей качества рыбы* (появление неприятных и посторонних привкусов и запахов) ЛПВ характеризуется как *рыбохозяйственный*, обозначается «*рыб-хоз»*.

Для каждого вещества устанавливается только одна величина норматива (за исключением случаев, предусмотренных условиями нормирования вещества с учетом природных особенностей водных объектов – регионального норматива данного вещества – см. ниже). При утверждении уточненного норматива прежний норматив, установленный ранее для этого вещества, отменяется.

При разработке нормативов, как для индивидуальных веществ, так и для смесей, используются одинаковые методические приемы. Под индивидуальным веществом понимается вещество, полученное в результате конкретного химического процесса. Индивидуальное вещество может содержать примеси побочных продуктов химической реакции и продуктов его трансформации за счет биологических и физико-химических факторов окружающей среды. Совокупность индивидуальных веществ, смешанных до поступления в окружающую среду, характеризует полученную совокупность веществ как смесевое вещество, или смесь. При разработке ПДК смесевого вещества состав исследуемого препарата должен быть полностью расшифрован заказчиком. В то же время условия конфиденциальности должны быть обеспечены исполнителем работ на время проведения исследований.

Оценка мутагенного и канцерогенного действия веществ проводится в том случае, если имеются научные сведения или есть подозрение на образование метаболитов, обладающих генотоксичностью.

Нормативы ПДК разрабатываются для веществ, используемых в производственной и иной деятельности, связанной с неизбежным сбросом или риском их поступления в водную среду (при транспортировке, погрузочно-разгрузочных операциях и т.д.), при применении на территории водосборной площади. Разработка нормативов осуществляется по запросу заказчиков. Не требуется разработка ПДК вещества для химически инертных и биологически неактивных веществ (природные минералы типа графита, силикатного стекла и др.), используемых промышленностью, если данные вещества не содержат токсичных примесей, растворимых в воде. К биологически неактивным веществам относятся те вещества, у которых величина $ЛК_{50}$ при 96 ч экспозиции составляет ≥ 1000 мг/л.

Для веществ, на которые разработаны нормативы ПДК или ОБУВ, должны быть разработаны и аттестованы методики количественного химического анализа (КХА) этих веществ в воде.

Наряду с ПДК устанавливают ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ – временный рыбохозяйственный норматив, необходимый для решения вопроса о допустимости использования того или иного препарата в народном хозяйстве и установлении допустимого уровня содержания его в воде рыбохозяйственного водоема. В настоящее время рыбохозяйственные ПДК установлены для более чем 1100 вредных веществ, а ОБУВ ядохимикатов в воде рыбохозяйственных водоемов – для более 80 химических соединений.

12.2. ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К РАЗРАБОТКЕ ПДК ВРЕДНОГО ВЕЩЕСТВА

Методика определения ПДК вредного вещества предусматривает проведение острых и хронических токсикологических исследований на организмах – представителях основных экологических групп гидробиоценоза. При этом в обязательном порядке должны быть проведены исследования хотя бы на одном представителе каждой из экологических групп. Для каждого тест-организма устанавливается круг основных тест-параметров (или тест-функций), которые контролируются в обязательном порядке, и вспомогательных, используемых для уточнения пределов действующих концентраций или для установления особенностей действия исследуемого вещества. При исследовании вещества оценивается характер загрязнения водной среды в опыте: опалесценция, пленка, изменение цвета раствора, истинность или коллоидность раствора, для мелкодисперсных взвесей – скорость оседания частиц, органолептическое определение запаха и вкуса (привкуса) воды и пр.

При выборе концентраций для токсикологического исследования вредного вещества необходимо соблюдать следующие правила:

а) для острых экспериментов выбираются 5–6 концентраций, различающихся между собой в 10 раз;

б) при проведении острых опытов среднесмертельная концентрация ($ЛК_{50}$) устанавливается для рыб при 96-часовой экспозиции, одноклеточных водорослей при 72 часах, для зоопланктона при 48 часах;

в) для определения пороговой концентрации в хронических опытах концентрации могут различаться в 2–5 раз.

При разработке ПДК для веществ, которые характерны для природных вод (в том числе в геохимических провинциях с пониженным или повышенным их содержанием), норматив определяется (рассчитывается) с учетом *природного фонового содержания* этого вещества в воде. При определении нормативов для других веществ достаточно убедиться в том, что они отсутствуют в воде, используемой в лабораторной практике.

Концентрации вредного вещества считаются действующими, если вызывают не только токсический, но и эвтрофирующий эффект (увеличение численности, биомассы организмов или других регистрируемых параметров). *Максимальные допустимые концентрации* (МДК) вредного вещества для каждого тест-параметра, используемого тест-организма, а также для тест-организма в целом, устанавливаются на основании статистической обработки экспериментальных данных. *Максимальная недействующая концентрация* (МНК) для наиболее чувствительного тест-объекта принимается как ПДК исследуемого вещества. Звено, к которому относится данный тест-объект, определяется как *лимитирующее* при разработке ПДК вещества.

В связи с высокой токсичностью органических пестицидов, при разработке для них ПДК обязательными являются исследования на рыбах материальной и функциональной кумуляции вещества (накопления вещества в органах и тканях и накопление токсического эффекта организмом).

Для расчета максимально недействующей концентрации (МНК) исследуемого вещества используется *пороговая концентрация* ($K_{\lim}$) – минимальная концентрация вещества, вызывающая достоверные изменения в организме с учетом суммы коэффициентов запаса по *стабильности вещества* ($K_с$) в воде, по степени накопления в организмах ($K_н$) – *материальная кумуляция* и по степени накопления токсического эффекта ($K_{кум}$) – *функциональная кумуляция:*

$$ПДК = K_{\lim} / \left(K_с + K_н + K_{кум}\right). \quad (12.1)$$

Для пестицидов, обладающих малой или умеренной стабильностью, ПДК определяется по максимальной недействующей концентрации для лимитирующего звена.

Стабильность. По степени стабильности в водной среде препарат относят к одной из шести групп, каждой из которых соответствует определенный коэффициент запаса ($K_з$), приведенный в табл. 12.1.

Таблица 12.1

Классификация веществ по их стабильности в водной среде (τ = 95%)

Группы	Стабильность	Время 95%-ного распада, сутки, τ_{95}	Коэффициент запаса $К_з$
1	Малая	До 10	1,0
2	Умеренная	11–60	2,5
3	Средняя	61–90	7,5
4	Высокая	91–180	13,5
5	Очень высокая	181–365	27,0
6	Сверхвысокая	Более года	–

В зависимости от стабильности вредного вещества в водной среде возникает необходимость оценить остаточную суммарную токсичность вещества и продуктов его превращения. Поскольку химико-аналитические методы не позволяют решить эту задачу, то оценку остаточной токсичности проводят методами биотестирования. В качестве тест-объекта рекомендуется использовать организмы зоопланктона (например, одновозрастные дафнии – для пресноводных водных объектов). Возможно использование в качестве тест-объекта других представителей трофической цепи, например, рыб (личинки, мальки, сеголетки). Исследованию подвергается одна концентрация вещества – $ЛК_{50}$ за 24 час наблюдения, которая предварительно устанавливается для тест-объекта в соответствии с общими требованиями для опытов на острую токсичность вещества.

Раствор вещества этой концентрации ($ЛК_{50}$ за 24 ч) вносят в восемь емкостей. Каждая емкость соответствует постановке эксперимента в определенный день исследований. На исходные (0-е) сутки, далее на 3-и, на 5-е, на 7-е, на 10-е, на 15-е, на 20-е и на 30-е сутки от начала эксперимента в соответствующие емкости вносят по одинаковому количеству тест-объектов (не менее 10 экземпляров). Перед каждым внесением тест-объектов в емкость с раствором содержимое тщательно перемешивают. Через 24 ч после внесения организмов

в емкость учитывают число погибших и удаляют их из емкости. Опыты проводят в 3-кратной повторности. Каждому опыту соответствует контроль. Полученные экспериментальные данные по соответствующим суткам исследования усредняют по повторностям и рассчитывают проценты погибших экземпляров тест-объекта. На основании полученных данных по гибели тест-организмов в соответствующей емкости, методом пропорции определяется концентрация вещества для каждой величины процента погибших тест-объектов в эксперименте. Полученные данные в соответствии с методическими указаниями используют для установления периода распада вещества на 95% (τ_{95}).

Материальная и функциональная кумуляция. Оценка накопления вещества в рыбах (*материальная кумуляция* вещества) проводится минимум при двух концентрациях. Опыты ставят по методике проведения хронического эксперимента длительностью не менее 30 суток (или используют для анализа рыб из проводимого хронического эксперимента). В течение этого периода через каждые 5 суток (5, 10, 20, 25, 30-е) отбирают особей для оценки содержания вещества в органах и тканях опытных и контрольных рыб, которые до окончания эксперимента можно хранить в холодильнике. Из 6 отобранных проб эффект накопления можно предварительно оценить в пробе, отобранной на 30-е сутки. Если при этом концентрация вещества в рыбе превышает концентрацию в исследуемой воде, проводится анализ всех проб, если не превышает – аналитическое исследование остальных проб можно не проводить. Для количественной оценки материальной кумуляции используют коэффициент накопления ($K_н$), который представляет собой отношение максимального содержания вещества в организме рыб ($M_р$, мг/кг) к его концентрации в воде ($C_в$, мг/л):

$$K_н = M_р / C_в . \qquad (12.2)$$

В зависимости от величины коэффициента материального накопления ($K_н$) вещество относят к соответствующей группе с коэффициентом запаса ($K_з$) (табл. 12.2).

Таблица 12.2

Классификация веществ по степени накопления их в организмах

Группа	Степень накопления вещества	Коэффициент накопления ($K_н$)	Коэффициент запаса ($K_з$)
1	Слабая	50	1
2	Умеренная	51–200	2
3	Высокая	201–1000	4
4	Сверхвысокая	> 1000	16

Оценка *функциональной кумуляции* вещества проводится для характеристики возможного перехода материальной кумуляции вещества в токсический эффект в хроническом эксперименте (накопление токсического эффекта при воздействии вещества на организм). Для оценки функциональной кумуляции вещества, после расчета параметров острой и хронической токсичности по каждому биологическому объекту (икра, личинки, молодь, взрослые рыбы), рассчитывают характеристику опасности развивающегося токсического эф-

фекта по отношению вероятностных смертельных концентраций. Наиболее полно отмечаемое явление характеризуется фактором угла наклона «доза – эффект» (S):

$$S = \frac{ЛК_{100}}{ЛК_{50}} + \frac{ЛК_{50}}{ЛК_{0}} \frac{1}{2}. \qquad (12.3)$$

Оценка кумулятивного действия вещества проводится по коэффициенту функциональной кумуляции ($K_{кум}$), который определяется отношением острой среднелетальной концентрации, умноженной на фактор угла «доза – эффект», к хронической среднелетальной концентрации, умноженной на свой фактор:

$$K_{кум} = \frac{ЛК_{50}^{остр.} \cdot S^{остр.}}{ЛК_{50}^{хр.} \cdot S^{хр.}}. \qquad (12.4)$$

В зависимости от величины коэффициента функциональной кумуляции ($K_{кум}$) вещество относят к одной из четырех групп (табл. 12.3), каждой из которых соответствует определенный коэффициент запаса $(K_{з_{кум}})$.

Таблица 12.3

Оценка веществ по коэффициенту функциональной кумуляции ($K_{кум}$)

Степень кумуляции	Коэффициент кумуляции ($К_{кум}$)	Коэффициент запаса ($Кз_{кум}$)
Слабая	1–50	1
Умеренная	51–200	5
Выраженная	201–1000	10
Высокая	>1000	20

Кумулятивные коэффициенты запаса по степени накопления вещества в организмах $(K_{з_н})$ и по степени накопления токсического эффекта $(K_{з_{кум}})$ используются при расчете ПДК для пестицидов. Коэффициент материальной кумуляции ($K_{кум}$) используется при установлении класса опасности вещества.

12.3. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕСНОВОДНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ

Фитопланктон. Планктонные одноклеточные водоросли (фитопланктон), как и высшие водные растения, представляют в водных экосистемах группу организмов-продуцентов. Из двух видов рекомендуемых одноклеточных водорослей для исследований может быть выбран один, в зависимости от возможностей и традиций лаборатории. В качестве основных стандартных тест-объектов используются лабораторные альгологически чистые монокультуры одноклеточных зеленых водорослей сценедесмус и хлорелла, относящиеся к родам сценедесмус (*Scenedesmus quadricauda, S. acuminatus*) и хлорелла (*Chlorella vulgaris*, *Chl. pyrenoidosa*). Чаще других в лабораторной практике ис-

пользуют виды *S. quadricauda* и *Chl. vulgaris*. Другие виды водорослей могут быть использованы только в дополнение к обязательным видам. Для экспериментов используют культуру водорослей в экспоненциальной фазе роста. Большое значение имеет физиологическое состояние культуры, проверяемое по эталонному (стандартному) веществу.

Оценка влияния вещества на одноклеточные водоросли производится по показателям изменения численности клеток водорослей (снижение или увеличение) в опытной среде по сравнению с контролем. Достоверное снижение численности клеток водорослей в растворе вещества является показателем токсического действия раствора вещества.

Критерием эвтрофирующего эффекта вещества является статистически значимое увеличение численности клеток водорослей в различных концентрациях вещества. Лимитирующий показатель вредности в данном случае – санитарный. Наряду с изучением динамики численности водорослей к регистрируемым показателям в опыте следует относить изменение pH; визуальные наблюдения за состоянием культуры водорослей: изменения в окраске, форме клеток и состоянии суспензии (взвешенное, опускание на дно, всплывание к поверхности, гомогенность или агрегация) по сравнению с контролем.

Макрофиты. Высшие водные (сосудистые) растения-макрофиты являются важным компонентом сообщества организмов-продуцентов водных объектов. Высшие пресноводные растения образуют основную фитомассу водных объектов, являются основным звеном, создающим первичное органическое вещество и выделяющим кислород, служат основным субстратом для размножения водных животных и местом их укрытия от опасности. Важную роль играет это звено в самоочищении водных объектов.

В схеме определения ПДК вредного вещества это звено представлено (на выбор) двумя видами: укореняющейся *Elodea canadensis* (элодея), у которой основная часть стебля взвешена в толще воды, и плавающей *Lemna minor* (ряска), у которой в толще воды располагаются только корешки, а основное растение стелется по поверхности. Оценку токсичности вредных веществ для элодеи осуществляют по следующим параметрам:

а) состояние растений (изменение окраски, потеря тургора, повреждение точек роста и др.);

б) выживаемость и прирост основного побега;

в) число боковых отростков и их длина;

г) число корней и длина.

Прирост основного побега элодеи определяют, вычитая исходные 4 см. Суммарный прирост растения составляется из суммы прироста основного побега и длины боковых отростков. Прирост выражают в сантиметрах, число боковых отростков и корней – в штуках (экз.).

Состояние ряски учитывают каждые 5 суток по выживаемости и изменению ряда биологических показателей. Отмечают общее состояние растений (изменение окраски, размер лопастей, состояние корней), число растений, лопастей и корней в штуках. Общее число лопастей составляет суммарный прирост ряски. Измерения длины проводят с помощью линейки. Все результаты измерений пересчитывают на одно растение. Учитывают сроки образования новых лопастей и корней, а также новых растений, которые приходятся примерно на 10–20-е сутки.

Простейшие. Простейшие, в частности инфузории, составляют до 70% численности гетеротрофного микропланктона в водных объектах. Многочисленность данной группы организмов, экологическая значимость ее в процессах самоочищения, в продукционных процессах, трофических связях, значение ее как составной части естественной кормовой базы зоопланктона и молоди рыб вызывают необходимость исследовать данную группу в токсикологическом плане. Наблюдения показали, что простейшие в силу своих физиологических особенностей проявляют большую чувствительность к изменению факторов внешней среды. Их короткий цикл развития дает возможность проследить действие отдельных веществ на ряде поколений. Данные организмы (особенно ресничные инфузории) достаточно легко культивировать. Все это делает простейших удобным тест-объектом для токсикологических опытов. В токсикологических исследованиях в качестве тест-объектов используется парамеция (*Paramecium caudatum*) – свободноживущая широко распространенная ресничная инфузория, предпочитающая альфа-мезосапробные условия. В качестве показателя действия токсикантов на тест-объект используют показатель выживаемости инфузорий за определенный срок наблюдения или нарушение темпа деления клеток инфузорий, которое выражается в изменении прироста численности клеток в проценте от контроля. Прирост численности организмов оценивают по формуле:

$$N_t = N_0 - N_t, \qquad (12.5)$$

где N_t – численность организмов в конце опыта (или последующие сутки подсчета), а N_0 – численность организмов в начале опыта (или предыдущие сутки подсчета). Результаты обрабатывают методами статистики.

Зоопланктон. Зоопланктонные ракообразные включены в схему по определению ПДК вещества в качестве типичного представителя звена зоопланктона и важнейшего кормового объекта. Метод с использованием ветвистоусых ракообразных в качестве тест-объектов является одним из наиболее широко применяемых в практике водной токсикологии у нас в стране и за рубежом. Наиболее часто используются виды дафний, цериодафний, моин (*Daphnia magna, D. longispina, D. carinata, Ceriodaphnia affinis, Moina macrocopa*). По экологическим и токсикологическим характеристикам дафния карината *(D. carinata*) близка к дафнии магна (*D. magna*), но легче переходит от партеногенетического типа размножения к бисексуальному и обратно. Этот вид может быть рекомендован для использования в южных районах страны с высокой среднегодовой температурой, так как имеет довольно высокий температурный оптимум – 28–31°С. Вид *D. longispina* к ксенобиотикам имеет приблизительно такую же токсикорезистентность, как и предыдущие виды, но менее выносливк осолонению водных объектов и загрязнению гуминовыми кислотами. Кроме того, *D. longispina* – олигосапробный вид, тогда как *D. magna и D. carinata* – типичные бетамезосапробы. Не рекомендуется для экспериментов вид *D. pulex* из-за его полиморфности и вариабельности токсикорезистентности. В настоящее время наиболее часто используются D. magna – стандартный биотест для токсикологических исследований в ряде стран, а также C. affinis, цикл развития которой, в два раза короче, чем у дафний. Метод с использованием

цериодафний при строгом соблюдении условий опыта вдвое короче, чем с использованием дафний. Эксперименты с более мелкой цериодафнией компактны – требуются меньшие объемы растворов и посуды. Однако на более крупных дафниях удобнее производить измерения, вести наблюдения за показателями размножения (четче выявляются патологические отклонения – абортирование яиц, эмбрионов, уродства). В опытах длительностью до четырех суток основным показателем токсичности среды является выживаемость дафний. Наблюдения за выживаемостью дафний проводят непрерывно в течение первого часа воздействия, затем ежечасно в первый день наблюдений и 2–3 раза в день – в последующие сроки.

Время гибели рачков отмечают по наступлению неподвижности (иммобилизации), при которой дафнии лежат на дне стакана, плавательные движения отсутствуют и не возобновляются при покачивании стакана. Достоверность получаемых результатов можно считать надежной, если удовлетворены следующие условия:

а) гибель контрольных дафний не превышает 10%;

б) $ЛК_{50}$ бихромата калия за 24 ч для дафний в возрасте 18 ± 6 ч находятся в диапазоне 0,9–2,0 мг/л;

в) содержание растворенного кислорода, определенное в конце опыта, составляет не ниже 2,0 мг /л.

В связи с большей требовательностью цериодафний к кислородному режиму среды они более чувствительны к органическому загрязнению и веществам, снижающим концентрацию растворенного кислорода в воде. По отношению к действию тяжелых металлов видовая чувствительность различна: в одних случаях более устойчивы цериодафнии, в других – дафнии.

Оценку токсичности на ветвистоусых ракообразных разных видов можно проводить по единой методике, изменяя процедуру постановки опытов с учетом индивидуальных биологических характеристик вида – разной продолжительности цикла развития, размеров, оптимальных условий содержания. Методика установления ПДК предусматривает два подхода определения хронической токсичности вещества на ракообразных:

1. Длительный опыт на серии трех поколений – *D. magna или C. affinis*. Проведение исследований на серии генераций предпочтительно тогда, когда есть основания полагать, что отрицательное действие веществ может накапливаться в поколениях.

2. Длительный опыт на модельных популяциях дафний – *D. magna, D. longispina* или *D. carinata.* Проведение исследований по этой схеме предпочтительно тогда, когда возможно отрицательное действие веществ на бисексуальный тип размножения, связанный с образованием самцов и латентных яиц. Кроме того, данный прием обеспечивает прямую оценку влияния вещества на продуктивные свойства дафний. В отдельных случаях выявлено, что при бисексуальном размножении дафний латентные яйца оказываются дефектными или вообще не развиваются. Дафния откладывает пустой эфиппиум.

Хронические (длительные) опыты с дафниями служат для глубокого, более детального исследования токсичности химических соединений.

Для хронических опытов подбирают 3–4 концентрации вещества, составляющие 0,1–0,0001 от $ЛК_{50}$ за 48 ч.

В каждой серии эксперимента (контрольной или опытной) используют не менее 20 рачков, а опыты ставят не менее чем в трех повторностях (приемлемы 4 повторности по 5 дафний или 3 повторности по 7 дафний). В опытные стаканы заливают растворы, исходя из соотношения 50 $см^3$ на 1 дафнию. Возраст рачков 18 ± 6 ч.

Общие условия (температура, освещенность) проведения хронических опытов те же, что и в острых опытах. Рачков ежедневно кормят хлореллой в концентрации 350–700 тыс. кл./$см^3$. Частота замены растворов определяется свойством веществ, но не реже двух раз в неделю. При смене растворов сохраняют соотношение 50 $см^3$ на 1 дафнию, если рачки погибают, количество исследуемого раствора пропорционально уменьшают.

Продолжительность опытов с каждой генерацией определяется временем появления четырех пометов у контрольных дафний, что составляет обычно около 20 суток, а общая продолжительность опытов – 40–45 суток. Основными показателями токсического действия являются выживаемость, рост, плодовитость и качество потомства. При наблюдении за размножением рачков учитывают время наступления половозрелости в днях, регистрируемое по моменту откладки яиц в выводковую камеру, время рождения первого помета, количество народившейся молоди в каждом помете. Необходимо учитывать также патологические отклонения: количественный учет абортивных яиц и эмбрионов, мертворожденной и уродливой молоди. В случае появления уродливой молоди ее отсаживают в небольшие сосуды с соответствующими концентрациями исследуемого соединения и наблюдают за ее выживаемостью минимум трое суток.

Наблюдения за выживаемостью и показателями размножения дафний ведут ежедневно, подсчет, анализ и удаление молоди удобно проводить во время смены растворов. Общее количество народившейся жизнеспособной молоди от одной самки отражает величину реальной (фактической) плодовитости дафний.

Бентосные огрганизмы. Брюхоногие моллюски играют важную роль в круговороте органического вещества в водных экосистемах. Прудовик болотный (обыкновенный, большой) *Limnea stagnalis* является представителем эпибентоса. Широко распространен в прибрежной зоне стоячих или медленно текущих водных объектов. Прудовиков отлавливают в летние месяцы на мелководьях эвтрофных водных объектов в зарослях высшей водной растительности. По окончании экспериментов с прудовиком и обобщении полученных данных допустимыми следует считать такие концентрации вещества, которые:

- не вызывают статистически значимого отклонения выживаемости взрослых моллюсков и молоди от выживаемости в контроле в срок до 60 суток;
- не вызывают статистически значимого угнетения размножения моллюсков за срок наблюдения;
- не снижают интенсивность потребления кислорода более чем на 15% по сравнению с контролем;
- изменяют водно-солевой обмен по сравнению с контролем не более чем на 10%.

Хирономиды. Из пресноводных бентосных организмов инфауны (зарывающихся в грунт) для проведения токсикологических опытов используются хирономиды. Хирономус дорзалис (*Chironomus dorsalis* Meig.) относится к

широко распространенному семейству хирономид, личинки темно-красного цвета обитают в иле стоячих водных объектов, где строят в грунте трубчатые домики. Окукливание наступает чаще всего на 12–13–е сутки. Перед окукливанием личинки перестают питаться, теряют активность. Стадия куколки длится 2–3 суток. В конце этой стадии куколки из олигофотных становятся полифотными, покидают грунт и всплывают к поверхности воды, где происходит вылупление комаров из кукольной шкурки через ее разрыв на дорсальной стороне груди. Общая продолжительность жизни комаров 3–5 суток. В течение этого времени ни самцы, ни самки не питаются. После выклева из яиц личинки покидают кладку и плавают в воде, через несколько дней они оседают на грунт, переходя к донному образу жизни. Их дальнейшие рост и развитие определяются в основном условиями питания, дыхания, качеством грунта, температурным режимом, плотностью популяции и некоторыми другими факторами.

Основные факторы:

- выживаемость личинок;
- сроки их окукливания;
- сроки и процент вылетевших комаров;
- процент уродливых особей.

Дополнительные факторы:

- окраска личинок;
- их поведенческие реакции;
- вес;
- активность имаго.

Среди погибших имаго встречаются насекомые, которые не смогли высвободиться из экзувия или при выходе из него повредили конечности или крылья. Часто встречаются имаго с уродствами, обусловленными действием токсических веществ, в частности кровоизлиянием в области брюшка, крыльев или общим кровоизлиянием. Такие экземпляры с трудом высвобождаются из экзувия. При выходе они еще больше раздуваются, происходит выпячивание отдельных участков тела между хитиновыми пластинками в области брюшка с последующим их разрывом.

У некоторых особей под действием токсичных веществ кишечник выпадает наружу. Вес личинок регистрируется на 7-е и 10-е сутки опыта.

Наблюдения за организмами ведутся ежедневно. Дрожжевые домики вскоре становятся непроницаемыми, и наблюдения ведутся в основном за пораженными особями, которые обычно остаются в домиках. Особое внимание обращают на форму домиков, поведение организмов, окраску тела, стадию, готовность к линьке и окукливанию, наполнение кишечника. Погибших особей измеряют и рассматривают под бинокуляром.

Размеры живых зрелых куколок и имаго в опыте и контроле можно оценивать визуально. Здоровые особи, как правило, не покидают домиков даже на небольшой срок. Сравнивают линейные размеры погибших особей с их первоначальной длиной и имеющимися в литературе нормативами роста для хирономид.

Для оценки острого летального действия можно использовать два способа:

- определение концентраций, вызывающих гибель за определенный срок 50% особей, взятых в опыт;
- определение медианного летального времени для ряда концентраций, а по форме кривой – границы между остролетальными и хронически летальными концентрациями.

В течение длительных опытов учитывают и основные, и дополнительные показатели, указанные выше. Выживаемость всех стадий выражают в процентах с поправкой по Абботу. Личинок взвешивают на торзионных весах на 7-е и 10-е сутки опыта. Удельный прирост биомассы определяют по формуле:

$$P = \left[\left(P_{\text{кон.}} - P_{\text{нач.}} \right) / P_{\text{нач.}} \right] 100 , \qquad (12.6)$$

где $P_{\text{нач.}}$ и $P_{кон.}$ – вес в начале и в конце опыта, соответственно.

Личинок после взвешивания в опыте не используют из-за травмирования, а эксперименты продолжаются с особями двух других линий той же популяции.

Регистрируют сроки вылета насекомых (в сутках) и проводят статистическую обработку данных.

Рыбы. Рыбы (наряду с водными млекопитающими) находятся в области конечного звена трофической цепи водных экосистем и включают две трофические группы – мирных и хищных видов рыб, из которых хищники занимают высшее звено по сравнению с мирными.

Определение ПДК веществ на ранних стадиях эмбриогенеза и на взрослых рыбах важно с двух точек зрения – установления опасности вещества для существования популяции рыб в водном объекте и угрозы здоровью человека при употреблении их в пищу.

Эти особенности рыб учитываются при выборе тест-объектов, установлении параметров и критериев токсичности, кумулятивных свойств, патологических изменений и отдаленных последствий действия исследуемых веществ.

Для определения наиболее чувствительных (уязвимых) звеньев среди разных групп рыб параметры токсичности следует определять на наиболее чувствительных к веществу видах и возрастных группах, кумулятивные эффекты и поиск наиболее чувствительных физиолого-биохимических показателей – на средне- и малочувствительных.

Выделяют три группы рыб, обладающих разной чувствительностью по отношению к большому числу токсических веществ:

а) высокочувствительные – все виды лососевых, а также голец, судак, плотва, пескарь, верховка;

б) среднечувствительные – голавль (возраст 1+), гольян, лещ, окунь, красноперка;

в) малочувствительные – голавль (возраст 2+ и старше), карп, карась.

Целесообразно использовать виды рыб, широко распространенные в местных водных объектах и хорошо переносящие содержание в лабораторных условиях.

Эмбрионы и личинки рыб. Контролируются эмбриональное развитие рыб в исследуемой воде, выклев свободных эмбрионов (предличинок) и выживаемость предличинок после выклева. Из литературных источников и из

опыта нормирования известно, что эмбрионы рыб и предличинки более чувствительны к токсическому воздействию по сравнению со взрослыми особями. В качестве тест-объекта для определения ПДК вещества по эмбриональному развитию удобно использовать икромечущую аквариумную рыбу данио *Brachydanio rerio*, поскольку материал для исследования можно получать в течение всего года, независимо от периодичности работы рыбоводных заводов. В природе данио обитает в медленно текущих водных объектах Юго-Восточной Азии. Длина взрослых рыб до 4,5 см. Тело цилиндрической формы, серебристое с 7–9 темно-синими горизонтальными полосами. Полосы идут к хвостовому и анальному плавникам. Спина окрашена в оливково-зеленый цвет. В качестве максимальной допустимой концентрации вещества для ранних стадий онтогенеза рыб принимается максимальная концентрация, не вызывающая статистически достоверного повышения смертности эмбрионов и личинок, увеличения числа особей с дефектами развития или отставания личинок в размерах и темпах развития. Наряду с аквариумной рыбкой данио могут быть использованы вьюн, осетр, форель и др.

Мальки и взрослые рыбы. В экспериментах используются мальки, сеголетки, годовики отдельных видов рыб. При отсутствии достаточного количества промысловых рыб и условий их содержания целесообразно проводить опыты на «сорных» рыбах с высокой и средней чувствительностью к токсическим веществам, например верховках и пескарях, а также использовать аквариумных рыбок, например данио. Выбор других рыб в качестве тест-организмов должен быть обоснован литературными и экспериментальными данными. Выживаемость рыб определяется путем систематического учета живых и погибших рыб на протяжении всего опыта (в острых опытах через 24, 48 и 96 ч, в хронических – через 5, 10 и далее через каждые 10 суток опыта). Полученные данные обобщают и выражают в абсолютных и процентных величинах. Устанавливают границы выживания рыб в зависимости от концентрации вещества и времени его воздействия на организм. Находят переносимую концентрацию вещества, которая не вызывает гибели рыб.

При токсикологической оценке вещества в качестве обязательных используются наиболее общие показатели и признаки отравления рыб. По ним устанавливают максимальные допустимые концентрации испытуемого вещества, то есть концентрации, которые в хроническом опыте не вызывают никаких отклонений исследуемых показателей от контроля. Максимальные допустимые концентрации, установленные по каждому обязательному показателю, вносят в сводную табл. 12.4.

Таблица 12.4

Сводная таблица допустимых концентраций для рыб

Организмы (вид, возраст)	Показатели и длительность опыта	Максимальные допустимые концентрации (мг/л)
	Выживаемость	
	Прирост ихтиомассы	
	Поведение	
	Реакции на внешние раздражители	
	Поедание корма	
	Характер и частота дыхания Внешний вид	

Окончание табл. 12.4

Организмы (вид, возраст)	Показатели и длительность опыта	Максимальные допустимые концентрации (мг/л)
	Состояние наружных покровов	
	Состояние жаберного аппарата	
	Патологоанатомическое вскрытие	
	Состояние внутренних органов	
	Гематологические и биохимические показатели	
	Органолептические свойства и вкусовые качества бульона и мяса рыб	
	Функциональная и материальная кумуляция	

В качестве максимальной допустимой концентрации вещества для взрослых рыб принимается наименьшая концентрация из допустимых, установленных по каждому обязательному показателю.

Полученные результаты сводят в таблицы, подвергают статистической обработке и в соответствии с изменениями исследуемых показателей от концентраций вещества устанавливают пороговую и недействующую концентрации в хроническом эксперименте.

12.4. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ВЕЩЕСТВА НА ПОКАЗАТЕЛИ ВОДНОЙ СРЕДЫ

Влияние вещества на показатели водной среды характеризуется по органолептическим (запах, цвет, прозрачность, мутность, взвесь, осадок), гидрохимическим (кислород, pH, нитриты, нитраты, аммоний) показателям, а также по показателям, характеризующим самоочищение воды ($БПК_5$, численность сапрофитных микроорганизмов).

Органолептические показатели воды. Органолептические показатели воды при различных концентрациях вещества характеризуют по изменению запаха и цвета, вязкости, опалесценции, прозрачности, мутности, взвеси, образованию осадка. Запах воды при различных концентрациях вещества определяют при комнатной температуре непосредственно из колбы с притертой пробкой. Для этого открывают пробку и слегка втягивают носом воздух из колбы у самого ее горлышка и оценивают наличие запаха. Интенсивность запаха отмечают по пятибальной шкале (табл. 12.5). Характер запаха определяют описательно: хлорный, землистый, болотный, хлорфенольный, запах нефти и нефтепродуктов, навозный, гнилостный и т.д.

Таблица 12.5

Шкала определения запаха по его интенсивности

Балл	Интенсивность	Оценка
0	Нет	Запах не ощущается
1	Очень слабый	Запах, обнаруживаемый большинством наблюдателей
2	Слабый	Запах, обнаруживаемый всеми наблюдателями
3	Заметный	Запах легко ощущаемый
4	Отчетливый	Запах четко ощущаемый
5	Очень сильный	Запах сильный и резкий

Органолептические свойства и вкусовые качества бульона и мяса рыб. После вскрытия и обследования по показателям, приведенным выше, рыб обмывают чистой питьевой водой, помещают в стаканы или колбы, заливают чистой питьевой водой в соотношении 5 частей воды на 1 часть рыбы и без добавления соли варят в течение 5–10 мин на слабом огне. После охлаждения до комнатной температуры у сваренных контрольных и опытных рыб вырезают кусочки спинных мышц весом 0,2–0,5 г (в зависимости от веса рыбы). Кусочки мяса помещают в рыбный бульон, разлитый по нумерованным чашкам Петри. Порядок нумерации чашек Петри с контрольными и подопытными рыбами оглашается дегустаторам только после окончания дегустации. Для проведения дегустации приглашается 3–5 человек. Испытатели отмечают цвет бульона, присутствие или отсутствие постороннего запаха, а затем цвет и присутствие или отсутствие постороннего запаха мяса рыб.

После этого определяют вкусовые качества мяса рыб и наличие постороннего привкуса. В норме вкус мяса рыб сладковатый. После дегустации образец продукта выбрасывают в банку, полость рта ополаскивают питьевой водой. Результаты дегустации испытатель вносит, не оглашая, в табл. 12.6.

Таблица 12.6

Запись результатов органолептических исследований

Номер пробы	Органолептические свойства бульона		Органолептические свойства и вкусовые качества мяса рыб		
	цвет	запах	цвет	запах	вкус
	Изменен или нет	Наличие или отсутствие постороннего запаха	Изменен или нет	Наличие или отсутствие постороннего запаха	Наличие или отсутствие постороннего вкуса

Обобщая дегустационные таблицы, испытатель делает заключение о наибольшей концентрации вещества, которая, по данным большинства дегустаторов, не вызывает изменений органолептических свойств бульона и мяса, вкусовых качеств мяса рыб.

Процессы самоочищения. Нарушение жизнедеятельности бактериального населения под действием химических веществ может привести к изменению качества водной среды и, в конечном итоге, к деградации экосистемы водного объекта. В связи с этим при установлении ПДК вещества следует определять его влияние на разные группы бактерий-минерализаторов. Для экспериментального исследования предлагается следующая цепочка объектов:

- сапрофиты, растущие на мясопептонном агаре (МПА), разведенном в 10 раз (МПА:10);
- нитрификаторы 1-й фазы;
- нитрификаторы 2-й фазы.

Наибольшей физиологической активностью обладают сапрофиты, первыми начинающие процесс минерализации, разлагая азотсодержащие органические вещества до аммонийного азота. Их сменяют нитрификаторы 1-й фазы, окисляющие аммонийный азот до нитритов, а затем – нитрификаторы 2-й фазы, окисляющие нитриты до нитратов. Для регистрации состояния бактерий в экспериментах применяется следующий набор основных показателей:

• Численность сапрофитов. Если исследуемое вещество легко усваивается бактериями, их численность значительно возрастает, превышая численность в контроле, а если токсично – количество микроорганизмов снижается.

• Дыхание бактерий. Определяется по $БПК_5$. Этот показатель характеризует физиологическую активность бактерий и не всегда коррелирует с численностью бактерий (в связи с тем, что токсическое действие некоторых ксенобиотиков выражается в увеличении численности бактерий на фоне снижения их физиологической активности).

• Концентрация растворенного кислорода. Показатель аэробного состояния среды.

• Аммонийный азот. Продукт метаболизма сапрофитов-аммонификаторов.

• Азот нитритов. Продукт метаболизма нитрификаторов 1-й фазы.

• Азот нитратов. Продукт метаболизма нитрификаторов 2-й фазы.

• pH среды. Показатель активной реакции среды.

Длительность наблюдения обусловлена сроком полной минерализации азотсодержащей органики в нормальных условиях до стабильной формы азота в виде нитратов. Момент окончания опыта определяют выходом концентрации нитратов в контрольном экспериментальном сосуде на стационарный уровень (плато), что происходит на 25–30-е сутки.

Химические определения проводят по общепринятым методикам.

Результаты перечисленных определений обрабатывают статистически и оценивают достоверность отклонения опытных величин от контрольных. *Допустимыми концентрациями* считаются такие, которые не вызывают достоверного отклонения исследуемых показателей от контрольных.

12.5. ТРЕБОВАНИЯ К РАЗРАБОТКЕ ПДК И ОБУВ ДЛЯ СМЕСЕЙ ПОСТОЯННОГО СОСТАВА

Особые требования предъявляются к разработке ПДК и ОБУВ для смесей постоянного состава. Под смесями постоянного состава (например, пестициды, некоторые красители, компоненты буровых растворов и проч.) подразумеваются рецептуры (препараты), полученные в результате намеренного смешивания двух или более индивидуальных веществ, имеющих (наряду с индивидуальными веществами) соответствующие номера ГОСТа или ТУ, которые определяют свойства этих смесевых веществ (количество и качество примесей). Такие смесевые вещества (препараты) могут иметь свое фирменное (или товарное) название. При определении норматива на смесь постоянного состава эта смесь исследуется как единое вещество в соответствии с общими правилами. При этом устанавливается суммарная величина норматива с указанием лимитирующего признака вредности и класса опасности. Величина норматива смеси используется для экспертной оценки экологического риска поступления такого вещества в водные объекты, а также для различных технологических расчетов сброса смеси в водные объекты и при оценке ущерба водным биоресурсам.

Все индивидуальные вещества, входящие в состав смеси, с точки зрения влияния на водную биоту рассматриваются как потенциально опасные или токсичные. На каждый компонент смеси также должна быть установлена величина норматива. Нормативы для смеси рассматриваются только в том случае, если установлены нормативы для ее отдельных компонентов. Не нормируются только те компоненты, для которых доказано отсутствие биологической активности на основании представляемых в отчете литературных или собственных экспериментальных данных (например, по оценке величины $ЛК_{50}$. Если хотя бы для одного биологически активного компонента смеси в качестве норматива определен ОБУВ, для всей смеси в качестве норматива может быть установлен только ОБУВ.

ПДК смеси может определяться по сокращенной схеме в следующих случаях:

а) если все компоненты смеси изучены и их нормативы установлены по одному и тому же лимитирующему признаку вредности, а наиболее чувствительное звено совпадает для всех компонентов, достаточно оценить эффект смеси на это звено и убедиться в отсутствии действия большего, чем аддитивное;

б) если лимитирующие признаки вредности и лимитирующие звенья для компонентов смеси различаются, необходимо исследовать влияние смеси на те показатели, которые были определяющими при обосновании ПДК для каждого из компонентов.

На смесевое вещество устанавливается ПДК, при которой не превышаются нормативы ни на один из его компонентов. Если какой-либо компонент в составе смеси превышает свой норматив при попадании этой смеси в воду, экспериментально установленная величина норматива на смесь корректируется так, чтобы этот компонент в составе смеси не превышал свой норматив.

Пример. В состав некоторой смеси входят: компонент «а», составляющий 10%; «b», составляющий 1% от общей массы смеси, и наполнитель, составляющий 89%. Ранее установленные ПДК для этих компонентов равны соответственно 0,01; 0,0001 и 0,25 мг/л. Результаты исследований выявляют в качестве допустимой для всей смеси концентрацию 0,1 мг/л. При такой концентрации смеси в среде концентрация компонента «а» составит 10% от 0,1 мг/л, т.е. 0,01 мг/л (нет превышения ПДК), компонента «b» – 1% от 0,1 мг/л, т.е. 0,001 мг/л (ПДК для этого компонента превышено в 10 раз), а наполнителя – 89% от 0,1 мг/л, т.е. 0,089 мг/л (превышения ПДК нет). Следовательно, для соблюдения нормативов отдельных компонентов смеси ПДК для всей смеси необходимо уменьшить в 10 раз, чтобы не превышался норматив для компонента «b». Поэтому ПДК для смеси не должна превышать 0,01 мг/л.

Аналитический контроль за содержанием смеси в водной среде ведется по индикаторному компоненту или компонентам смеси. Выбор индикаторного компонента проводится на основе следующих принципов: выявление наиболее токсичного и опасного компонента; выбор наиболее стабильного компонента; определение относительной массы (процентного содержания) компонентов смеси; наличие метода определения вещества в воде или его обязательная разработка.

12.6. РАЗРАБОТКА НОРМАТИВОВ ПДК ВЕЩЕСТВ С УЧЕТОМ ПРИРОДНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

С целью сохранения сформировавшегося под влиянием природных факторов состава воды водных объектов разрабатываются региональные нормативы. Такие нормативы разрабатываются для химических элементов, встречающихся в природных водах отдельных геохимических провинций в относительно повышенных или пониженных концентрациях. Региональные нормативы необходимы также для техногенных аналогов природных веществ, сброс которых требует учета типа принимающего водного объекта и особенностей водосборной территории. К ним относятся вещества, способные повышать сапробность и эвтрофность вод (легко утилизируемые органические соединения и соединения биогенных элементов), изменять солевой режим (минерализацию) и pH природных вод, изменять концентрацию взвешенных (минеральных) веществ природного происхождения, а также соединения и комплексы гуминовых кислот.

Территории, для которых предполагается разработка нормативов с учетом природных особенностей водных объектов (геохимические провинции, районы с водными объектами определенной трофности, жесткости воды и т.д.), должны быть охарактеризованы по содержанию нормируемого ингредиента в поверхностных водах с целью доказательства повышенного или пониженного его содержания по сравнению со средним его уровнем для поверхностных вод. Кроме того, необходимы сведения по интегральным показателям качества воды на водосборе, в том числе по содержанию основных компонентов воды и физико-химическим факторам (водные объекты определенной жесткости, трофности и т.д.).

Критерием аномальности естественного уровня (кларка) содержания нормируемого вещества может служить статистически значимое отличие его от среднего содержания в поверхностных водах в меженный период года 95%-ной обеспеченности.

Нормативы определяются с использованием стандартных тест-объектов, культивируемых на местной воде (водные растения, зоопланктонные организмы, бентосные организмы, аквариумные виды рыб). В случае необходимости в общий список тест-объектов могут быть добавлены чувствительные местные виды. Обоснованность данных, полученных на эндемичных видах для определения величины норматива в целом, рассматривается и подтверждается при рекомендации норматива к утверждению.

При антропогенном загрязнении вод территории (с учетом природных особенностей водных объектов) можно использовать токсикологические данные, полученные на воде и тест-объектах для водного объекта-аналога из незагрязненного района.

Если на вещество существует утвержденный общероссийский норматив, то региональный норматив может быть установлен по сокращенной схеме. Для этого на местной воде должны быть проведены исследования на тест-объектах, оказавшихся лимитирующими при установлении общероссийского норматива.

Величины нормативов ПДК веществ или ОБУВ веществ, с учетом природных особенностей водных объектов, указываются всегда в абсолютном значении, а не в допустимом превышении концентрации над фоновым уровнем.

12.7. ОЦЕНКА КЛАССА ОПАСНОСТИ ВРЕДНОГО ВЕЩЕСТВА

В основу классификации опасности вещества положены показатели, характеризующие различную степень опасности для водных биоресурсов химических соединений, загрязняющих воду водных объектов рыбохозяйственного значения, в зависимости от токсичности, степени накопления в организмах, способности вызывать отдаленные эффекты, лимитирующего показателя вредности.

Класс опасности вещества учитывает:

- степень опасности вещества в связи с его появлением в водных экосистемах;
- приоритет при контроле загрязнения среды;
- обоснование рекомендаций о замене хозяйственного использования высокоопасных веществ на менее опасные.

Действующей НТД установлены четыре класса опасности веществ, загрязняющих воду водных объектов рыбохозяйственного значения и токсичных для водных биоресурсов. При отнесении вещества к определенному классу опасности учитывается:

- токсичность вещества по величине его ПДК;
- стабильность этого вещества в водном объекте;
- кумулятивные свойства.

Отнесение проводится по любому из указанных признаков, одному или нескольким.

1-й класс – чрезвычайно опасные вещества, лимитируемые по токсикологическому и рыбохозяйственному ЛПВ. Степень вредного воздействия на водные биоресурсы *очень высокая*. Первый класс опасности выделяют по следующим признакам:

- ПДК вещества < 0,00001 мг/л;
- материальная кумуляция высокая или сверхвысокая (коэффициент накопления $K_н > 200$);
- стабильность вещества (τ_{95}) или токсичных продуктов его распада превышает 180 суток при 20°С.

К 1-му классу относятся вещества исключительно антропогенного происхождения (ксенобиотики, не имеющие аналогов в природе).

2-й класс – высокоопасные вещества, лимитируемые по токсикологическому и рыбохозяйственному ЛПВ. Степень вредного воздействия на водные биоресурсы *высокая*.

Второй класс опасности выделяют по следующим признакам:

- ПДК вещества от 0,0001 до 0,00001 мг/л (вещества, для которых принимается значение ПДК – «отсутствие», относятся ко второму классу);
- материальная кумуляция умеренная ($K_н$ 51–200). В отдельных случаях слабовыраженная ($K_н$ 1,1–50);
- стабильность вещества или токсичных продуктов его распада – 60–180 суток при 20°С. Для северных районов, где преобладают низкие температуры воды, эти вещества лимитируются по классу 1.

Ко второму классу также относятся вещества исключительно антропогенного происхождения (ксенобиотики, не имеющие аналогов в природе).

3-й класс – опасные вещества, лимитируемые в основном по токсикологическому, иногда по рыбохозяйственному (в том числе и органолептическому) ЛПВ. Степень вредного воздействия на водные биоресурсы *средняя*.

Третий класс опасности выделяют по следующим признакам:

- ПДК вещества от 0,01 до 0,0001 мг/л;
- материальная кумуляция слабовыраженная ($K_н$ 1,1–50). Вещества не вызывают видимых патологических явлений и легко выводятся из организма;
- стабильность вещества или токсичных продуктов его распада менее 60 суток при 20°С).

К третьему классу опасности относятся как ксенобиотики, так и вещества природного происхождения (например, сероводород, сульфиды и др.).

4-й класс – умеренно опасные вещества, лимитируемые по любому ЛПВ. Степень вредного воздействия на водные биоресурсы *низкая*.

Четвертый класс опасности выделяют по следующим признакам:

- ПДК вещества > 0,01 мг/л;
- не обладают кумулятивными свойствами;
- стабильность меньше 10 суток при 20°С (τ_{95}).

К четвертому классу относятся частично ксенобиотики (обычно биологически относительно инертные), но в значительной степени – вещества природного происхождения. В 4-м классе выделяются вещества (4-й класс «экологический» – 4э), действие которых проявляется в изменении экологических условий в водном объекте. Это вещества, входящие в состав органических соединений сапробного типа, компоненты минерализации природных вод, биогенные вещества и др.

Если из трех показателей, характеризующих класс опасности вещества (ПДК, стабильность, степень кумуляции), два последних являются более жесткими величинами при температуре 20±5°С, чем указано для класса опасности вещества в соответствии со значением его ПДК, тогда класс опасности данного вещества ужесточается на единицу.

При величине ПДК вещества 0,00001 мг/л и менее или при лимитирующем показателе «генотоксичность» вещество не рекомендуется для внедрения в производство и в практику. К разработке ПДК и ОБУВ биологических препаратов предъявляются специальные требования, предусмотренные действующей НТД.

В связи с тем, что Россия расположена в различных климатических зонах, учитывается температурный фактор прогрева водных объектов в течение года, и при необходимости класс опасности при высокой среднегодовой температуре воды (20°С) можно снижать, а при более низкой температуре воды повышать, так как в этом случае деградация вещества соответственно увеличивается или замедляется в 3–10 раз. В табл. 12.7 приведены общие требования к физико-химическим параметрам воды водных объектов, используемых для рыбохозяйственных целей.

Таблица 12.7

Общие требования к составу и свойствам воды водных объектов рыбохозяйственного значения

Показатели состава и свойств воды водных объектов	Категория водопользования	
	высшая и первая	вторая
Взвешенные вещества	При сбросе возвратных (сточных) вод конкретным водопользователем, производстве работ на водном объекте и в прибрежной зоне содержание взвешенных веществ в контрольном створе (пункте) не должно увеличиваться по сравнению с естественными условиями более чем на 0,25 мг/дм^3 – 0,75 мг/дм^3 В водных объектах рыбохозяйственного значения при содержании в межень более 30 мг/дм^3 природных взвешенных веществ допускается увеличение содержания их в воде в пределах 5%. Возвратные (сточные) воды, содержащие взвешенные вещества со скоростью осаждения более 0,4 мм/с, запрещается сбрасывать в водотоки и более 0,2 мм/с – в водоемы.	
Плавающие примеси (вещества)	На поверхности воды не должны обнаруживаться пленки нефтепродуктов, масел, жиров и скопления других примесей.	
Температура	Температура воды не должна повышаться по сравнению с естественной температурой водного объекта более чем на 5°С, с общим повышением температуры не более чем до 20°С летом и 5°С зимой для водных объектов, где обитают холодолюбивые рыбы (лососевые и сиговые) и не более чем до 28°С летом и 8°С зимой в остальных случаях. В местах нерестилищ налима запрещается повышать температуру воды зимой более чем на 2°С.	
Водородный показатель (pH)	Не должен выходить за пределы 6,5–8,5.	
Минерализация воды	Нормируется согласно категориям рыбохозяйственных водных объектов или его участков.	
Растворенный кислород	В зимний (подледный) период должен быть не менее 6,0 мг/дм^3 – 4,0 мг/дм^3 В летний (открытый) период во всех водных объектах должен быть не менее 6 мг/дм^3.	
Биохимическое потребление кислорода ($БПК_{полн.}$)	При температуре 20°С не должно превышать 3,0 мг/дм^3 Если в зимний период содержание растворенного кислорода в водных объектах высшей и первой категории снижается до 6,0 мг/дм^3, а в водных объектах второй категории до 4 мг/дм^3, то можно допустить сброс в них только тех сточных вод, которые не изменяют БПК воды.	
Химические вещества	Не должны содержаться в воде водных объектов рыбохозяйственного значения в концентрациях, превышающих нормативы ПДК веществ.	
Токсичность воды	Сточная вода на выпуске в водный объект не должна оказывать острого токсического действия на тест-объекты. Вода водного объекта в контрольном створе не должна оказывать хронического токсического действия на тест-объекты.	

Итак, при разработке рыбохозяйственных ПДК устанавливают границы концентраций, оказывающих прямое остролетальное, хроническое летальное и сублетальное действие на представителей основных звеньев биологического круговорота веществ в водоемах, необходимых для воспроизводства рыбных запасов. Кроме того, границы концентраций загрязняющего вещества, при которых обычные показатели качества воды (растворенный в воде кислород, биохимическое потребление кислорода, формы азота, pH) могут достигать критических значений, оказывающих остролетальное, хроническое летальное и сублетальное действие. При разработке ПДК вода, используемая в экспериментах, должна отвечать рыбохозяйственным требованиям. Отдельно учитываются случаи, когда загрязняющее вещество, разрушаясь, добавляет компоненты, нарушающие рыбохозяйственные требования к воде, и случаи, когда качество воды меняется за счет изменения гидрохимических процессов.

Глава 13

ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ НОРМАТИВОВ ДОПУСТИМОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ (НДВ) ПО ПРИВНОСУ ХИМИЧЕСКИХ И ВЗВЕШЕННЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПОВЕРХНОСТНЫЕ ВОДНЫЕ ОБЪЕКТЫ[33]

13.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

В 2006 г. впервые в Российской Федерации были введены в действие «Методические указания по разработке нормативов допустимого воздействия на водные объекты». Нормативы допустимого воздействия (НДВ) на водные объекты призваны обеспечить практическую реализацию принципов устойчивого водопользования с учетом региональных (бассейновых) особенностей, соблюдение экологической безопасности, предотвращение загрязнения, засорения и истощения водных объектов, охрану здоровья населения, а также поэтапную ликвидацию последствий вредных воздействий на водный объект и его экосистему. Нормативы НДВ также используются для регламентации видов хозяйственной деятельности, в результате которой в водный объект привносятся химические вещества и/или их смеси путем сброса, поступления с диффузным стоком и т.д., ухудшающие качество воды и способствующие деградации водной экосистемы. С 2008 по 2013 годы было разработано 89 проектов НДВ по бассейнам рек России, из которых утвержден 21 проект.

Нормативы допустимого воздействия на водные объекты (НДВ) предназначены для установления безопасных уровней содержания загрязняющих веществ, а также других показателей, характеризующих воздействие на водные объекты, с учетом природно-климатических особенностей водных объектов данного региона и сложившейся в результате хозяйственной деятельности природно-техногенной обстановки. Необходимость разработки НДВ диктуется реальным экологическим неблагополучием, сложившимся на водных объектах России. Так, по данным обобщенной статистической отчетности об использовании воды по состоянию на 2014 г., в водные объекты страны сбрасывается 52 куб. км в год сточных вод, из которых проходят очистку только около 9,2 куб. км. Свыше 72% сточных вод, подлежащих очистке, сбрасываются недостаточно очищенными, 17% – загрязненными без очистки и только 11% – очищенными до установленных нормативов.

[33] Глава написана с участием Л.А. Солнцева.

Для регламентации видов воздействия на водные объекты НДВ определяются исходя из целевого назначения водного объекта и видов водопользования (источники питьевого водоснабжения; водные объекты рыбохозяйственного значения; особо охраняемые природные территории; сохранение существующего гидрохимического режима).

Основной расчетной территориальной единицей при разработке нормативов допустимого воздействия на водные объекты принимается водохозяйственный участок.

В полном объеме нормативы допустимого воздействия на водный объект разрабатываются для следующих видов воздействий:

- привнос химических и взвешенных веществ;
- привнос радиоактивных веществ;
- привнос микроорганизмов;
- привнос тепла;
- сброс воды;
- забор (изъятие) водных ресурсов;
- использование акватории водных объектов для строительства и размещения причалов, стационарных и (или) плавучих платформ, искусственных островов и других сооружений;
- изменение водного режима при использовании водных объектов для разведки и добычи полезных ископаемых.

Однако в этой главе, с учетом токсикологической тематики всей книги, будут рассмотрены только нормативы допустимых воздействий (НДВ) на поверхностные водные объекты по химическим показателям.

Нормативы качества воды для поверхностных водных объектов устанавливаются для следующих групп водных объектов.

Во-первых, это природные водные объекты, воздействие антропогенной нагрузки на которые не привели к изменению его основных гидрологических и морфологических характеристик;

Во-вторых, это природные водные объекты, которые в результате человеческой деятельности подверглись физическим изменениям, приведшим к существенному изменению их основных характеристик – гидрологических, морфометрических, гидрохимических и др. (русловые водохранилища, озера-водохранилища, спрямленные (канализованные) участки рек, природные водоемы и водотоки, трансформированные в технологические водоемы, и др.).

Наконец, в-третьих, это водные объекты, созданные в результате деятельности человека там, где ранее естественных водных объектов не существовало.

В случае комплексного использования водного объекта при отсутствии установленных приоритетов для расчета НДВ принимаются наиболее жесткие нормы качества воды для имеющихся на водном объекте видов водопользования.

По происхождению загрязняющие вещества могут быть:

- искусственного происхождения (ксенобиотики);
- двойного генезиса, т.е. распространенные в природных водах как по естественным причинам, так и в результате антропогенного воздействия.

Для ксенобиотиков, а также высокоопасных веществ *нормативы качества воды* принимаются, в зависимости от целевого использования водных объектов, *равными рыбохозяйственным или гигиеническим нормативам предельно допустимых концентраций (ПДК).*

Для веществ двойного генезиса, в зависимости от конкретных условий и наличия приоритетных видов использования, *нормативы качества воды* могут приниматься *равными нормативам ПДК* химических веществ, которые определяются *с учетом регионального естественного* (условно-естественного) гидрохимического фона дифференцированно для конкретных типов водных объектов.

Нормативы допустимого воздействия разрабатываются для водохозяйственных участков, которые подвергаются или могут быть подвергнуты в течение ближайших 5 лет существенным нагрузкам в результате хозяйственной и иной деятельности на соответствующей водосборной площади, включая акваторию водного объекта.

В пределах водохозяйственного участка виды воздействий нормируются в следующих случаях, если:

- в современных условиях или перспективе развития хозяйствования могут наблюдаться нарушения санитарно–гигиенических требований на водных объектах, являющихся источниками питьевого назначения, в том числе резервных;
- оказывается негативное воздействие на особо охраняемые природные территории;
- затронуты интересы основных водопользователей, обусловленные ухудшением условий водопользования;
- более чем на 5% площади акватории водного объекта наблюдается деградация водного объекта, то есть, ухудшение состава и свойств воды, состояния дна и берегов, видового состава животного и растительного мира водного объекта.

Нормативы допустимого воздействия на водные объекты по привносу химических и взвешенных минеральных веществ характеризуются общей массой привноса в водный объект или его часть веществ, включенных в перечень нормируемых, за расчетный временной период, зависящий от условий формирования качественных характеристик (мг/дм^3) и режима поступления загрязняющих веществ (г/ч, т/год, т/сезон).

Нормативы допустимого воздействия на водные объекты устанавливаются для критических условий водности, при которых нормируемый вид воздействия наиболее сильно влияет на водный объект.

Нормативы допустимого воздействия на водные объекты устанавливаются на период не менее 15 лет, исходя из состояния каждого конкретного водного объекта, определенного в ходе разработки нормативов допустимого воздействия на водные объекты. Корректировка нормативов допустимого воздействия на водные объекты осуществляется на основе результатов государственного контроля и надзора за использованием и охраной водных объектов не чаще одного раза в 5 лет.

13.2. СХЕМА РАСЧЕТА НДВ НА ВОДНЫЕ ОБЪЕКТЫ

Расчет нормативов допустимого воздействия на водные объекты по нормируемым видам воздействия проводится по схеме, состоящей из следующих этапов.

Этап 1. На основе гидрографического и водохозяйственного районирования производится выделение водохозяйственных расчетных участков, отличающихся приоритетными видами использования: особо охраняемые природные территории, источники питьевого водоснабжения, водные объекты рыбохозяйственного значения, включая рыбоохранные и рыбохозяйственные заповедные зоны.

Этап 2. Производится сбор данных о водном объекте и его водосборной площади в пределах расчетного участка, видах хозяйственной деятельности, оказывающих влияние на водный объект, определение видов воздействия, подлежащих нормированию.

Этап 3. Проводится ретроспективный анализ результатов существующего мониторинга по гидробиологическим и абиотическим (гидрохимическим и др.) показателям. При отсутствии мониторинга по гидробиологическим характеристикам фоновые или типовые показатели состояния принимаются по участкам с наименьшей антропогенной нагрузкой или могут быть организованы специальные натурные исследования для уточнения показателей качества воды и состояния экологических систем.

Этап 4. Анализируются результаты мониторинга с целью определения перечня веществ, подлежащих учету в составе нормативов допустимого воздействия на водные объекты, путем сравнения с ПДК химических веществ для приоритетных видов использования водных объектов (для высокоопасных веществ и веществ искусственного происхождения) и/или региональных фоновых показателей (для веществ двойного генезиса). Проводится ранжирование загрязняющих веществ по степени опасности и значимости для экологической системы водного объекта, распространению в пределах водохозяйственного участка с последующим составлением перечня нормируемых веществ. При наличии опасных производств на водосборной площади возможны расширенные исследования для выявления наиболее опасных компонентов.

Этап 5. Оценивается фактическое экологическое состояние водного объекта на расчетных участках относительно региональных фоновых показателей и ПДК химических веществ ($НДВ_{хим.}$) для приоритетных целей использования.

Этап 6. Проводится оценка лимитирующих гидрологических характеристик для различных условий водности, установление экологического расхода (гидрографа).

Этап 7. Определяются нормативы ПДК химических веществ с учетом природных особенностей территорий и акваторий (региональный фон), назначения природных объектов и природно–антропогенных объектов, гарантирующих стабильность экологической системы водного объекта с заданной обес-

печенностью, и/или удовлетворения требований приоритетных видов использования воды – *региональные* ПДК.

Этап 8. На основании анализа фактического состояния водного объекта, регионального фона, приоритетных видов использования водных ресурсов и расположения расчетного участка в гидрографической сети устанавливаются нормативы качества воды водного объекта, обеспечивающие сохранение экологических систем и удовлетворение социально-экономических и санитарно-эпидемиологических потребностей населения, в том числе целевое использование водных объектов.

Этап 9. Проводится расчет НДВ на водные объекты по привносу химичесикх веществ в соответствии с принятыми нормативами качества воды водного объекта за характерные временные периоды (год, отдельные сезоны и т.д.).

Общая масса привноса в водный объект или его часть загрязняющих химических веществ, т.е. НДВ по привносу химических веществ, определяется на основании баланса веществ с учетом всех источников воздействия. Под источниками воздействия понимаются объекты, с которых осуществляется сброс или иное поступление в водные объекты веществ, ухудшающих качество поверхностных вод, ограничивающих их использование, а также негативно влияющих на состояние дна и берегов водных объектов. Кроме того, принимаются во внимание особенности миграции и трансформации веществ, ассимилирующая способность водного объекта и его водосборной площади, а также транзитное поступление загрязняющих веществ.

Среди источников загрязнения выделяются:

- источники, вносящие *неорганизованным путем* в поверхностные воды загрязняющие вещества, с измененной хозяйственной деятельностью части водосборной площади (т.н. источники диффузного загрязнения вод);
- объекты антропогенной деятельности, сточные воды которого содержат загрязняющие вещества, микроорганизмы или тепло и отводятся в водный объект *сосредоточенным потоком* с применением специальных сооружений или устройств (источники загрязнения *точечные*). Информация о таких источниках содержится в государственной статистической отчётности (форма 2 ТП-водхоз).

При превышении фактического содержания химических веществ в водном объекте над нормативом качества воды НДВ на водные объекты корректируется в сторону снижения.

В общей массе привноса в водный объект или его часть загрязняющих химических веществ выделяются три составляющие, зависящие от источников загрязнения:

- природный привнос (не подлежит регулированию, учитывается при установлении допустимого воздействия по видам водопользования без изъятия водных ресурсов из водных объектов);
- неуправляемый или слабоуправляемый привнос (неорганизованные площадные диффузные источники загрязнения, управление которыми на современном этапе технически неосуществимо или малоэффективно);
- управляемый или потенциально управляемый привнос загрязняющих веществ (организованные источники загрязнения и диффузные источники

загрязнения, чьи количественные и качественные характеристики могут регулироваться посредством технических средств на современном этапе).

Следует подчеркнуть, что суммарная величина нормативов допустимого сброса (НДС)[34] для всех водопользователей по участку не может превышать составляющую НДВ по управляемому или потенциально управляемому привносу загрязняющих веществ.

13.3. СОСТАВ ИСХОДНОЙ ИНФОРМАЦИИ ДЛЯ ОБОСНОВАНИЯ НДВ

Исходная информация, используемая при разработке НДВ на водные объекты, подразделяется на информацию по водному объекту и его водосборной площади, а также видам воздействия и связанной с ними хозяйственной деятельности.

В состав исходной информации по водному объекту включается информация о биотических и абиотических характеристиках самого водного объекта (или его участка) и его водосборной площади. При отсутствии информации, а также для сравнения с эталонными водными объектами привлекается информация по сопредельным или близлежащим водным объектам и их водосборным площадям.

В качестве абиотических характеристик рассматриваются:

- гидрологические (уровень, расход воды за характерные периоды заданной обеспеченности, внутригодовое распределение и др.);
- гидроморфологические (тип руслового процесса, характеристика русла и поймы, донных отложений и др.);
- морфометрические (глубина, ширина, объем и др.);
- физические (прозрачность, цветность воды, температура и др.);
- химические (концентрации веществ и соединений, класс вод, уровень загрязненности вод по различным классификациям, в том числе с использованием гигиенических, биологических и рыбохозяйственных показателей; степень токсичности воды; степень аккумуляции загрязняющих веществ в органах гидробионтов и донных отложениях и др.);

В качестве биотических характеристик рассматриваются:

- микробиологические (санитарно-микробиологические и санитарно–эпидемиологические: микробное число, количество сапрофитных бактерий, патогенной микрофлоры, бактерий группы кишечной палочки и др.);
- гидробиологические (видовое разнообразие, численность индикаторных организмов, биомасса, продукция, уровень воспроизводства гидробионтов, состав и численность особо охраняемых видов водных растений и животных и др.);
- паразитологические (жизнеспособные яйца гельминтов, патогенные, простейшие и т.п.).

---

[34] Об НДС см. главу 18.

Источниками исходной информации по водному объекту, его водосборной площади, видам воздействия и связанной с ними хозяйственной и иной деятельности являются:

- Государственный водный реестр;
- Государственный водный кадастр (данные предшествующего периода);
- Государственный земельный кадастр;
- Единый государственный фонд данных о состоянии окружающей среды и ее загрязнения;
- банк данных социально-гигиенического мониторинга, включающий в себя оценки качества воды источников питьевого и хозяйственно–бытового водоснабжения и оценки состояния водных объектов, используемых для рекреационных целей и содержащих природные лечебные ресурсы;
- данные о состоянии водных биологических ресурсов и особо охраняемых рыбохозяйственных зонах;
- справочно-аналитические материалы, содержащие данные мониторинга и анализа социально-экономических процессов по Российской Федерации, субъектам и регионам Российской Федерации, отраслям и секторам экономики;
- результаты ранее проведенных изыскательских и научно-исследовательских работ по изучению водосборной площади и водных объектов в пределах водохозяйственного участка и соседних бассейнов;
- данные справочной литературы (системы классификации вод, оценки уровня токсичности вод, критерии отклика биоты на воздействие и т.д.).

Итоговыми материалами расчета нормативов допустимого воздействия на водные объекты является сводный том нормативов допустимого воздействия на водные объекты с пояснительной запиской и приложениями к ней.

13.4. АЛГОРИТМЫ РАСЧЕТА НДВ

Расчет НДВ по привносу химических веществ производится на основе баланса масс с учетом природных и хозяйственных особенностей конкретного водохозяйственного участка. Предложенный алгоритм расчета представляет собой достаточно гибкий механизм, позволяющий учитывать особенности внутригодового распределения стока, гидрохимического режима, особенности гидрографической сети и легко корректируется для лет различной обеспеченности. Его применение ориентировано в основном на водотоки и проточные водохранилища с коэффициентом водообмена более 5.

Норматив допустимого воздействия по привносу химических веществ ($НДВ_{хим}$) рассчитывается для наиболее неблагоприятных условий формирования качественных характеристик воды (водность заданной обеспеченности), с учетом влияния всех существующих и потенциальных источников загрязнения: точечных и рассредоточенных (диффузных). При этом априорно принимается, что если в этих условиях будут соблюдаться нормативы качества водного объекта, то при более благоприятных условиях эти нормативы будут соблюдаться автоматически.

Норматив допустимого воздействия по привносу химических веществ ($НДВ_{хим}$) *является суммарной массой загрязняющего вещества, которая максимально допустима на расчетном участке водного объекта в пределах установленного периода времени, когда концентрации загрязняющего вещества в замыкающем створе и в среднем по участку не превышают норматив качества воды, установленный для водного объекта или его участка* – Сн.

Расчет выполняется по привносу химических и взвешенных минеральных веществ, включенных в список нормируемых, на основании установленных значений *нормативов качества воды* (Сн).

При установлении нормативов качества воды для конкретного водного объекта или расчетного водохозяйственного участка учитываются следующие принципы:

- приоритет охраны водных объектов перед их использованием, при котором не должно оказываться негативное воздействие на окружающую среду, приоритет использования водных объектов для целей питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения перед иными целями их использования,
- сохранение особо охраняемых водных объектов.

Приоритет при установлении нормативов качества при прочих равных условиях зависит от приоритетного целевого использования водного объекта или его участка, определяемого в соответствии с действующим законодательством.

В качестве нормативов качества воды в зависимости от сочетания условий, фактического состояния и использования водного объекта могут приниматься:

- предельно допустимые концентрации для химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования (гигиенические ПДК);
- предельно допустимые концентрации для химических веществ в воде водных объектов рыбохозяйственного значения (рыбохозяйственные ПДК);
- ориентировочно допустимые уровни (ОДУ) химических веществ в воде водных объектов питьевого и хозяйственно-бытового (хозяйственно-питьевого) и рекреационного (культурно-бытового) водопользования;
- ориентировочно безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воде водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение;
- нормативы предельно допустимых концентраций химических веществ, установленных в соответствии с показателями регионального фона (рекомендуется применять для веществ двойного генезиса).

Под региональным фоном понимается значение показателей качества воды, сформировавшееся под влиянием природных факторов, характерных для конкретного региона, не являющееся вредным для сложившихся экологических систем. Наличие *экологического благополучия* в водном объекте определяется на основе *гидробиологических показателей*. Для расчета регионального фона используются гидрохимические данные только по створам, расположенным на участках с *подтвержденным экологическим благополучием*.

13.4.1. РАСЧЕТ РЕГИОНАЛЬНЫХ ПДК

Норматив ПДК с учетом региональных особенностей определяется по формуле, аналогичной установлению фоновых концентраций в соответствии с действующими методическими документами по проведению расчетов фоновых концентраций химических веществ в водотоках.

За фоновую концентрацию (региональный фон, $C_{р.ф.}$) вещества принимается статистически обоснованная верхняя доверительная граница возможных средних значений концентраций этого вещества, рассчитанная по результатам гидрохимических наблюдений для наиболее неблагоприятных гидрологических условий или наиболее неблагоприятного в отношении качества воды периода (сезона) в годовом цикле. Значение фоновой концентрации вещества ($C_{р.ф.}$) рассчитывается для конкретных створов водотоков и считается статистически обоснованным, если оно определено с доверительной вероятностью p = 0,95. При расчете фоновой концентрации вещества ($C_{р.ф.}$) следует учитывать только те створы наблюдений, где имеются данные не менее чем за один год – при ежемесячной, ежедекадной или еще более дробной системе отбора проб воды; не менее чем за двухлетний период при 6–11-разовом отборе проб воды в год; не менее чем за трехлетний период при 4–5-разовом отборе проб воды в год. Основное условие – чтобы наблюдения проводились во все характерные сезоны, не менее одного года и минимальное число данных в каждом сезоне за расчетный период было не менее трех. В качестве оценки концентрации по тому, или иному веществу по ряду наблюдений принимается концентрация $C_{р.ф.}$

$$C_{р.ф.} = C_{факт} + \frac{\sigma t_{St}}{\sqrt{n}},$$

где $C_{факт.}$ – средняя концентрация вещества в ряду наблюдений; σ – среднеквадратическое отклонение; n – число наблюдений, t_{St} – коэффициент Стьюдента при p = 0,95.

Значение $C_{факт.}$ используется при расчете $НДВ_{хим}$ для веществ двойного генезиса, поскольку поддержание в водном объекте концентраций на уровне верхнего предела приводит к завышению величины $НДВ_{хим}$ и возникновению временного тренда и ухудшению качества воды на перспективу.

Установление нормативов качества воды в замыкающем створе каждого из выделенных расчетных водохозяйственных участков (РВХУ) выполнялось в соответствии со следующими условиями:

- для веществ исключительно антропогенного происхождения (ксенобиотиков), а также высокоопасных веществ нормативы качества воды принимаются в зависимости от целевого использования водных объектов равными рыбохозяйственным или гигиеническим нормативам предельно допустимых концентраций (ПДК):

$$C_н = ПДК; \qquad (13.1)$$

- для веществ двойного генезиса:

$$\text{если } C_{\text{р.ф.}} \geq \text{ПДК, то } C_{\text{н}} = C_{\text{р.ф.}}; \qquad (13.2)$$

$$\text{если } C_{\text{р.ф.}} < \text{ПДК, то } C_{\text{н}} = \text{ПДК}. \qquad (13.3)$$

К ксенобиотикам, как правило, могут быть отнесены нефтепродукты, СПАВы, свинец, кадмий, мышьяк, молибден, ртуть.

13.4.2. РАСЧЕТ НДВ

В общем виде расчет $\text{НДВ}_{\text{хим}}$ для расчетного участка водного объекта за любой период времени выполняется по балансовой формуле, учитывающей приходную часть (рис. 13.1):

$$\text{НДВ}_{\text{хим}} = C_{\text{нр}} W_{\text{уч}} - \sum \left(C_{\text{нр}} W_{\text{ест}} + C_{\text{нвх}} W_{\text{вх}} + C_{\text{нобпр}} W_{\text{обпр}} \right), \qquad (13.4)$$

где $W_{\text{уч}}$ – общий объем стока на водохозяйственном участке к замыкающему створу за определенный расчетный период, млн м^3; $W_{\text{ест}}$ – объем местного стока в пределах расчетного участка, млн м^3:

$$W_{\text{ест}} = W_{\text{бпр}} + W_{\text{ндиф}}; \qquad (13.5)$$

$W_{\text{бпр}}$ – объем боковой приточности с участков, не подверженных антропогенному воздействию (за вычетом участков водосборной площади, трансформированных хозяйственной деятельностью с имеющимися диффузными источниками загрязнения антропогенного происхождения, как управляемыми, так и неуправляемыми), млн м^3; $W_{\text{ндиф}}$ – объем боковой приточности на участках с неуправляемыми диффузными источниками загрязнения, млн м^3; $W_{\text{супр}}$ – объем водоотведения, включая точечные и потенциально управляемые диффузные источники загрязнения (в основном сточные воды), млн м^3. $W_{\text{вх}}$ – объем стока, поступающий с вышерасположенного водохозяйственного участка, млн м^3; $W_{\text{обпр}}$ – объем стока, поступающий с притоками первого порядка, обособленными в самостоятельные расчетные участки со своими нормативами качества воды водного объекта, млн м^3; $C_{\text{нр}}$, $C_{\text{нвх}}$, $C_{\text{нобпр}}$ – нормативы качества воды водного объекта для соответствующих водохозяйственных участков, мг/л.

$$НДВ_{твор} = C_{нр}W_{уч} - (C_{нр}W_{ест} + C_{н.вх}W_{вх} + C_{нобпр}W_{обпр}),$$

$$НДВ_{факт} = C_{нр}W_{уч} - (C_{фактр}W_{ест} + C_{фактвх}W_{вх} + C_{фактобпр}W_{обпр}),$$

$$W_{уч} = W_{ест} + W_{вх} + W_{обрвхпр} + W_{супр} = W_{бкр} + W_{пдиф} + W_{вх} + W_{обкр} + W_{супр}$$

Рис. 13.1. Схема расчета НДВ по привносу химических веществ

Для веществ двойного генезиса расчетная формула имеет частично измененный вид:

$$НДВ_{хим} = C_{нр}W_{уч} - \sum\left(C_{сф}W_{ест} + C_{нвх}W_{вх} + C_{нобпр}W_{обпр}\right), \quad (13.6)$$

где $C_{сф}$ – концентрация нормируемого вещества, соответствующая среднему или модальному значению диапазона абиотических факторов, при которых сохраняется экологическое благополучие водного объекта, определенное по гидробиологическим показателям, мг/л.

Для водохозяйственных участков, расположенных в верховьях, или обособленных притоков расчетная формула имеет вид:

– для веществ искусственного происхождения:

$$НДВ_{хим} = C_{нр}\left(W_{ест} + W_{супр}\right); \quad (13.7)$$

– для веществ двойного генезиса:

$$НДВ_{хим} = C_{нр}\left(W_{ест} + W_{супр}\right) - C_{сф}W_{ест}. \quad (13.8)$$

Для сильно измененных участков, находящихся в экологически неблагополучном состоянии, при определяющей роли сточных вод в общем стоке боковая приточность не учитывается и формула принимает вид:

$$НДВ_{хим} = C_{нр}W_{супр}. \quad (13.9)$$

Поскольку соблюдение норматива качества воды по всем показателям в течение всего годового цикла является идеальным (теоретическим) вариантом, для практического использования $НДВ_{хим(макс)}$ корректируется путем контрольного пересчета по фактическим усредненным концентрациям, определяющим текущую (фактическую) нагрузку ($НДВ^*_{хим}$).

Для верховых и обособленных участков расчет $НДВ^*_{хим}$ ведется по формуле:

$$НДВ^*_{хим} = C_{нр}W_{уч} - C_{факт}W_{ест}. \qquad (13.10)$$

Для общего случая формула имеет вид:

$$НДВ^*_{хим} = \\ = C_{нр}W_{уч} - \mathrm{SUM}(C_{фактр}W_{ест} + C_{фактвх}W_{вх} + C_{фактобпр}W_{обпр}). \qquad (13.11)$$

При расчетах $C_{сф}$ принимали равной значению среднемноголетней концентрации вещества $C_{факт}$.

В зависимости от конкретной ситуации и соотношения текущего $НДВ^*_{хим}$ (фактического) и максимального (теоретического) расчетного $НДВ_{хим(макс)}$ утверждаемый норматив $НДВ_{хим}$ определяется следующим образом:

1) Если $НДВ^*_{хим} < НДВ_{хим(макс)}$, то в качестве утверждаемого норматива принимается $НДВ_{хим} = НДВ^*_{хим}$. При этом на расчетном водохозяйственном участке имеет место **сверхнормативная нагрузка** загрязняющим веществом. На картосхемах соответствующие расчетные участки можно выделить **красным** цветом**.**

2) Если $НДВ^*_{хим} > НДВ_{хим(макс)}$, т.е. значение $C_{факт} < C_н$, в качестве утверждаемого норматива $НДВ_{хим} = НДВ_{хим(макс)}$, поскольку норматив не может превышать максимально допустимой массы сброса загрязняющих веществ. При этом на расчетном водохозяйственном участке имеется **возможность дополнительной нагрузки** загрязняющим веществом; на картосхемах соответствующие расчетные участки можно выделить **зеленым** цветом.

3) В случае, если НДВ* = $НДВ_{(макс)}$, то на расчетном водохозяйственном участке **отсутствует возможность дополнительной нагрузки** загрязняющим веществом; на картосхемах соответствующие расчётные участки можно выделить **желтым** цветом.

Использование предложенной цветовой гаммы степени нагрузки загрязняющими веществами позволяет визуализировать соотношения $НДВ_{макс}$ и НДВ*, и тем самым оценить экологическую обстановку на конкретном расчетном участке, что будет проиллюстрировано ниже на примере Горьковского водохранилища (глава 13.5).

Величина допустимого воздействия по привносу химических веществ зависит от гидрологического и гидрохимического режима водных объектов, а

также режима функционирования источников загрязнения, состав и характеристики которых значительно варьируют в течение года. В связи с этим расчет $НДВ_{хим}$ проводят дифференцированно по основным гидрологическим сезонам: зимняя и летне-осенняя межени, весеннее или весенне-летнее половодье.

При наличии разработанного и утвержденного гидрографа экологического стока расчет ведется на объемы, соответствующие ему; при отсутствии его – на самые неблагоприятные условия в пределах каждого характерного сезона.

В качестве наиболее неблагоприятных условий при указанном выше внутригодовом распределении рекомендуется принимать:

– летне-осеннюю и зимнюю межень года 95%-ной обеспеченности и соответствующие им объемы стока;

– весеннее или весенне–летнее половодье года 50%-ной обеспеченности и соответствующие им объемы стока (принятие данной обеспеченности обусловлено наиболее неблагоприятным соотношением между массой поступающих загрязняющих веществ от точечных и диффузных источников загрязнения и разбавляющей способностью водного объекта для данного сезона).

Наиболее неблагоприятные условия формирования качественных характеристик отдельных сезонов не совпадают по обеспеченности в пределах конкретного календарного или гидрологического года, поэтому норматив допустимого воздействия в годовом разрезе $НДВ_{химгод}$ определяется для условного года с критическими условиями формирования качества как сумма сезонных значений, рассчитанных по вышеприведенным формулам:

$$НДВ_{химгод} = НДВ_{химзм95\%} + НДВ_{химлом95\%} + НДВ_{химвп50\%}. \qquad (13.12)$$

Значения нормативов $НДВ_{химгод}$ для условного года являются теоретической величиной. При управлении водными ресурсами используются данные лет различной обеспеченности, обычно в диапазоне от 50% до 95%. Для перехода от условного года к расчетной обеспеченности применяются расчетные сезонные переходные коэффициенты от базового значения $НДВ_{хим}$ по сезонам. Например, норматив $НДВ_{хим}$ для года 95%-ной обеспеченности, являющегося в большинстве случаев расчетным по условиям антропогенной нагрузки, определяется следующим образом:

$$НДВ_{химгод95\%} = \\ = 1xНДВ_{химзм95\%} + 1xНДВ_{химлом95\%} + \left(W_{вп95\%} / W_{вп50\%}\right) xНДВ_{химвп50\%}. \qquad (13.13)$$

Для водопользователей, имеющих управляемые и потенциально управляемые источники загрязнения, остается часть от общего норматива $НДВ_{хим}$, а именно:

$$НДВ_{химупр} = C_н W_{супр}. \qquad (13.14)$$

13.5. МЕТОДЫ АНАЛИЗА НДВ

Рассмотрим некоторые методы анализа НДВ на примере Горьковского водохранилища. Для этого водного объекта разработка НДВ проводилась по следующим водохозяйственным участкам:

08.01.03.001 р. Кострома от истока до водомерного поста д. Исады;

08.01.03.002 р. Волга от Рыбинского гидроузла до г. Кострома (без р. Костромы);

08.01.03.003 р. Унжа: исток, устье;

08.01.03.004 р. Волга от г. Костромы до Горьковского гидроузла (без р. Унжи);

08.01.03.005 р. Волга от Горьковского гидроузла до устья р. Оки.

На основе анализа структурированной линейной водохозяйственно-гидрографической схемы бассейна р. Волги ниже Рыбинского водохранилища и до впадения реки Оки, а также границ природных физико-географических зон было выделено 29 расчетных водохозяйственных участков (РВХУ) (рис. 13.2), для каждого из которых устанавливались НДВ по 24 приоритетным загрязняющим веществам с учетом сезонной дифференциации. В качестве примера в табл. 13.1 в приведены знания НДВ загрязняющих веществ, рассчитанные для РВХУ 08.01.03.001.01 (р. Воча) для года 95%-ной обеспеченности. Река Воча – левый приток р. Костромы. Течет в песчаном русле, среди берегов, покрытых смешанным лесом. Длина реки составляет 62 км. Летом р. Воча сильно мелеет, обнажая множество мелких перекатов, берега зарастают болотной травой, ивняком. Несмотря на то, что р. Воча относится к категории малых рек, ее воды за год привносят в р. Кострому и далее в Горьковское водохранилище существенное количество загрязняющих веществ, хотя в целом в этом расчетном участке, как будет показано ниже, экологическая ситуация благополучная.

Использование предложенной выше цветовой гаммы степени нагрузки загрязняющими веществами позволило визуализировать соотношения $НДВ_{макс}$ и $НДВ^*_{хим}$ и тем самым оценить экологическую обстановку в конкретном расчетном участке.

Так, например, из табл. 13.1 следует, что по СПАВам, нефтепродуктам, хрому свинцу и кадмию во всех РВХУ имеет место сверхнормативная нагрузка.

Диагностика экологического состояния РВХУ по уровню загрязнения отдельно взятыми загрязняющими веществами (ЗВ), как по его фактической концентрации, так и нормативу допустимого воздействия, при всей своей симптоматической ценности имеет известные ограничения, поскольку не отражает комплексного воздействия всей суммы ЗВ на акваторию РВХУ. Как указывалось выше, список согласованных приоритетных ЗВ составлял для Горьковского водохранилища 24 наименования. Задача свертки информации об уровне загрязнения конкретного РВХУ комплексом из 24 загрязняющих веществ является нетривиальной. Получаемые в процессе экологического мониторинга сведения часто бывают трудно сопоставимы между собой и не всегда удовлетворяют требованиям метрологии, статистической воспроизводимости и другим условиям, которые позволили бы обоснованно использовать для их анализа традиционные методы математической статистики.

Рис. 13.2. Линейная схема гидрографической единицы подбассейнового уровня 08.01.03 (р. Волга ниже Рыбинского водохранилища до впадения р. Оки)

Таблица 13.1

Цветовая визуализация соотношений НДВ$_{макс}$ и НДВ*$_{хим.}$ для расчётных водохозяйственных участков на участке бассейна р. Волги от Рыбинского гидроузла до впадения р. Оки

РВХУ	Взвешенные вещества	Сухой остаток	Хлориды	Сульфаты	Азот аммонийный	Нитраты	Нитриты	Фосфаты	БПК5	ХПК	СПАВ анионоактивный	Нефтепродукты	Фенолы	Железо общее	Медь	Цинк	Никель	Хром	Марганец	Алюминий	Кальций	Магний	Свинец	Кадмий
1	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
2	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
3	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴
4	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴
5	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
6	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🔴	🔴	🔴	🟢	🔴	🟢	🟢	🔴	🟢	🔴	🔴
7	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴
8	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
9	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴
10	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
11	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🔴	🟢	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴
12	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
13	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🔴	🟢	🔴	🔴
14	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴
15	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
16	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
17	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
18	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴
19	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴
20	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
21	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴
22	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
23	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴
24	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
25	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
26	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴
27	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
28	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🟡	🟡	🟡	🟡	🔴	🔴
29	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🔴

🔴 На водохозяйственном участке имеет место сверхнормативная нагрузка загрязняющим веществом

🟢 На водохозяйственном участке имеется возможность дополнительной нагрузки загрязняющим веществом

🟡 На водохозяйственном участке отсутствует возможность дополнительной нагрузки загрязняющим веществом

Для адекватной оценки качества окружающей среды, динамики происходящих в ней процессов и возможности сравнения объектов по ряду свойств между собой необходимо определять интегральные показатели, которые позволили бы избежать вышеупомянутых затруднений.

В основу разработки таких показателей могут быть положены элементы теории нечетких (размытых) множеств и предназначенной для преодоления трудностей представления неточных понятий, анализа и моделирования систем, в которых участвует человек. Такой подход является, по сути дела, альтернативой общепринятым количественным методам анализа систем и дает приближенные, но достаточно эффективные способы описания сложных и плохо определенных систем, не поддающихся точному математическому анализу.

Методом, позволяющим с помощью комплексного показателя дать интегральную оценку экологического состояния природного или антропогенного объекта по произвольному числу показателей, может послужить рассматриваемая в теории нечетких множеств обобщенная функция желательности (ОФЖ). Функции желательности представляют собой способ перевода натуральных значений в единую безразмерную числовую шкалу с фиксированными границами. При этом граничные значения функции, например, «0» и «1» соответствуют градациям «плохо – хорошо».

Таким образом, обобщенная функция желательности (D) может служить некоторой интегральной мерой отклонения состояния системы от нормы. Для идеально функционирующей системы величина D будет равна 1, и соответственно, чем меньше значение D, тем хуже состояние системы.

Обобщенная функция желательности может быть рассчитана по формуле:

$$D = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^{n} d_i^{\alpha}} = \sqrt[n]{d_1^{\alpha} \cdot d_2^{\alpha} \cdot d_3^{\alpha} \ldots d_n^{\alpha}}, \qquad (13.15)$$

где d_i – частная функция желательности, α – весовой коэффициент, n – число показателей. Обобщенная функция желательности есть средняя геометрическая, и если хотя бы одна из переменных равна нулю, то и $D = 0$.

Чтобы избежать «зануления» обобщённой функции желательности (D), что неизбежно при использовании линейной нормировки по «минимаксу» для эмпирического ряда переменных с фиксированными значениями $X_{\min}$ и $X_{\max}$, можно воспользоваться предлагаемым нами алгоритмом, основанном на свертке функций. Свертка функций может быть интерпретирована как скалярное произведение функций, образующих бесконечномерное пространство векторов. Для двумерного случая свертка в виде конечных сумм может быть записана как:

$$\eta = \frac{2\sum_{i,j=1}^{n} x_i x_j}{\sum_{i,j=1}^{n} \left(x_i^2 + x_j^2\right)}. \qquad (13.16)$$

Для вычисления частной функции желательности удобно воспользоваться следующими выражениями:

$$d_{\max_i} = \frac{2(x_i \cdot x_{\max})}{x_i^2 + x_{\max}^2}, \qquad (13.17)$$

для случая, когда увеличение натурального показателя является «желательным» и

$$d_{\min_i} = \frac{2(x_i \cdot x_{\min})}{x_i^2 + x_{\min}^2}, \qquad (13.18)$$

в противном случае. Очевидно, что частная функция желательности, вычисленная по этим формулам, также определена на интервале [0,1], но $d_i = 0$ только при $x_{\min}$ ($x_{\max}$)= 0.

После того как выбрана шкала желательности и частные показатели преобразованы в частные функции желательности, можно решить основную задачу – построить обобщенный показатель – обобщенную функцию желательности.

Величина этой обобщенной желательности может служить некоторой интегральной мерой отклонения состояния системы от нормы. Для идеально функционирующей системы величина D будет равна 1, и соответственно чем меньше значение D, тем хуже состояние системы.

Для обоснования значений обобщенной функции желательности были приняты границы градаций функции желательности Харрингтона, которые позволяют дать приемлемую характеристику экологической ситуации (табл. 13.2).

Как уже указывалось, диагностическим критерием, позволяющим оценить экологическую обстановку на конкретном РВХУ является соотношение между $НДВ_{макс}$ и $НДВ^*_{хим}$ ($НДВ_{факт.}$). Если ($НДВ^*_{хим}$ / $НДВ_{макс}$) > 1, то на расчетном водохозяйственном участке имеется **возможность дополнительной нагрузки** загрязняющим веществом, что оценивается как благополучная экологическая ситуация, т.е. «желательная». Соответственно, значения d_i будут стремиться к 1. При ($НДВ^*_{хим}$ / $НДВ_{макс}$) < 1 на расчетном водохозяйственном участке имеет место **сверхнормативная нагрузка** загрязняющим веществом, что является «нежелательным». В этом случае значения d_i будут стремиться к 0. Значение ($НДВ^*_{хим}$ / $НДВ_{макс}$) = 1 интерпретируется как **отсутствие возможности дополнительной нагрузки** загрязняющим веществом. При этом значения d_i будут определяться диапазоном значений $НДВ^*$ / $НДВ_{макс}$ (рис. 13.3).

Таблица 13.2

Градации экологической ситуации по значению обобщенной функции желательности

Значения функции обобщенной желательности	Цветовая гамма	Характеристика экологической ситуации
1,000–0,801		Очень хорошая
0,800–0,631		Хорошая
0,630–0,371		Удовлетворительная
0,370–0,201		Плохая
0,200–0,000		Очень плохая

Таблица 13.3

Устанавливаемые НДВ по привносу химических веществ для РВХУ 08.01.03.001.01 (р. Воча) для года 95%-ной обеспеченности

Номер п/п	Вещества	Норматив качества, мг/л	Ед. измере-ния	Зимняя межень	Весеннее половодье	Летне-осенняя межень	За год
1	Взвешенные вещества	30	т	154,2	342,0	888,0	1 384,1
2	Сухой остаток	1000	т	5 534,6	12 277,1	31 878,9	49 690,6
3	Хлориды	300	т	2 202,0	4 884,7	12 683,7	19 770,4
4	Сульфаты	100	т	436,2	967,7	2 512,6	3 916,5
5	Азот (NH_4^+)	0,65	кг	696,9	1 545,6	4 013,2	6 255,7
6	Нитраты	40	т	291,3	646,1	1 677,8	2 615,2
7	Нитриты	0,08	кг	530,2	1 176,1	3 053,9	4 760,2
8	Фосфаты	0,24	т	1,6	3,5	9,1	14,2
10	$БПК_5$	3,1	т	4,4	9,7	25,1	39,2
11	ХПК	53,71	т	108,5	240,6	624,9	974,0
12	СПАВ	0,5	т	3,7	8,2	21,2	33,0
13	Нефтепродукты	0,05	кг	0,0	0,0	0,1	0,1
14	Фенолы	0,004	кг	14,3	31,8	82,6	128,7
15	Железо общее	0,84	т	1,9	4,1	10,8	16,8
16	Медь	0,002	кг	5,3	11,8	30,6	47,7
17	Цинк	0,01	кг	42,1	93,4	242,4	377,9
18	Никель	0,01	кг	68,9	152,9	396,9	618,7
19	Хром	0,07	кг	530,4	1 176,5	3 055,0	4 762,0
20	Марганец	0,06	кг	116,6	258,6	671,4	1 046,6
21	Алюминий	0,04	кг	216,0	479,1	1 243,9	1 938,9
22	Кальций	58,23	т	34,8	77,1	200,2	312,0
23	Магний	40	т	171,7	380,9	989,0	1 541,6
24	Свинец	0,006	кг	9,9	21,9	56,9	88,8
25	Кадмий	0,001	кг	4,4	9,7	25,2	39,3
26	Мышьяк	0,01	кг	76,0	168,7	438,0	682,7
27	Молибден	0,001	кг	7,6	16,9	43,8	68,3
28	Ртуть	0,00001	кг	0,1	0,2	0,4	0,7

Рис. 13.3. Пространственное распределение РВХУ в бассейне р. Волги ниже Рыбинского водохранилища до впадения р. Оки с помощью обобщенной функции желательности, по соотношениям $НДВ^{*}_{хим}/НДВ_{макс}$ для 24 загрязняющих веществ для условного года

На рис. 13.3 изображено пространственное распределение РВХУ по состоянию экологической ситуации, определяемой соотношением фактической и максимально разрешенной нагрузки комплексом из 24 загрязняющих веществ. Как правило, верховые участки незарегулированных водотоков характеризуются «очень хорошей» экологической ситуацией. По мере приближения к акватории Горьковского водохранилища экологическая ситуация становится более напряженной и характеризуется как «удовлетворительная». Некоторые РВХУ являются проблемными. Так, например, РВХУ 6, 13 и 29 характеризуются «плохой» экологической ситуацией, а РВХУ 23 – «очень плохой». Детальный анализ показывает, что для РВХУ 6 причиной является сверхнормативное загрязнение нефтепродуктами, железом, медью, цинком, хромом, свинцом, кадмием. Кроме того, следует учитывать, что РВХУ 13 является замыкающим в бассейне р. Костромы, а РВХУ 29 – фактический приемник всех загрязняющих веществ бассейна Горьковского водохранилища. Результаты такого анализа позволяют принять управленческие решения, направленные на оздоровление экологической ситуации. Таким образом, НДВ могут быть эффективным средством для управления водным хозяйством. Однако для этого необходимо создание унифицированной государственной системы комплексного экологического мониторинга водных объектов, включающей в себя в качестве *обязательных и равноправных* элементов, гидрологические, гидрохимические и гидробиологические наблюдения, координированные с Европейской Рамочной водной директивой.

Глава 14

ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В ПОЧВЕ

14.1. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Как известно, почва, или биокосное тело, по В.И. Вернадскому, играет исключительную роль в биосферном перемещении, аккумуляции и трансформации антропогенных загрязняющих веществ. *Почва* (ГОСТ 27593–88) – самостоятельное естественноисторическое органоминеральное природное тело, возникшее на поверхности Земли в результате длительного воздействия биотических, абиотических и антропогенных факторов, состоящее из твёрдых минеральных и органических частиц, воды и воздуха и имеющее специфические генетико-морфологические признаки, свойства, создающие для роста и развития растений соответствующие условия.

Кроме того, *почва* – это поверхностный слой литосферы Земли, обладающий плодородием и представляющий собой полифункциональную, гетерогенную, открытую четырёхфазную (твёрдая, жидкая, газообразная фазы и живые организмы) структурную систему, образовавшуюся в результате выветривания горных пород и жизнедеятельности организмов. Её рассматривают как особую природную мембрану (биогеомембрану), регулирующую взаимодействие между биосферой, гидросферой и атмосферой Земли. Почвы являются функцией от климата, рельефа, исходной почвообразующей породы, микроорганизмов, растений и животных (то есть биоты в целом), человеческой деятельности и изменяются со временем.

Принципы эколого-гигиенической регламентации химических веществ в почве существенно отличаются от принципов их нормирования в воде водоемов, атмосферном воздухе и пищевых продуктах. Это обусловлено тем, что непосредственно в организм человека вредное вещество из почвы поступает лишь в отдельных случаях (при прямом контакте человека с почвенной пылью, при выполнении ручных сельскохозяйственных работ и т.д.). При этом основная масса химических веществ из почвы попадает в организм человека через контактирующие с ней среды (воду, воздух, растения) по биологическим цепям миграции. Этим определяется опосредованный характер неблагоприятного воздействия на здоровье человека загрязнений почвы, что в свою очередь требует знаний особенностей нормирования и сути исследований по обоснованию эколого-гигиенических регламентов содержания вредных веществ в почве. Рассмотрим основные теоретические положения современных представлений о регламентировании содержания вредных веществ в почве.

Положение 1. Допускается возможность поступления и содержания химических соединений в почве в виде примесей к естественному ее составу в количествах, безопасных для здоровья людей и окружающей среды.

Положение 2. При оценке безопасности поступления химических веществ в почву следует исходить из недопустимости превышения порога адаптационной возможности организма самых чувствительных групп населения и порога экологической адаптационной (самоочищающей) способности почвы при изолированном, комплексном, комбинированном или сочетанном действии поллютантов на организм человека и окружающую среду (порог безопасного действия).

Положение 3. Исследования по обоснованию нормативов содержания вредных веществ в почве должны проводиться в экстремальных почвенно–климатических условиях, способствующих максимальной миграции изучаемых химических веществ в контактирующие с почвой среды (вода, воздух, растение), а также обеспечивающих их наиболее интенсивное воздействие на процессы самоочищения и почвенный микробиоценоз.

Положение 4. Необходимым является соблюдение требования о проведении всех исследований в стандартных и, следовательно, сопоставимых почвенных и микроклиматических условиях. Такие условия создаются при использовании всеми исследователями единого, имитирующего стандартного модельного почвенного эталона (МПЭ), основанного на постоянном гранулометрическом и физико-химическом составе песчаной почвы и единых микроклиматических параметрах.

Положение 5. По аналогии с регламентированием содержания химических веществ в воде водоемов, атмосферном воздухе и воздухе рабочей зоны производственных помещений, исследования по обоснованию ПДК вредных веществ в почве проводят не в натурных, а только в единых, сопоставимых экспериментальных условиях на лабораторных модельных установках.

Положение 6. В ходе эксперимента должны быть проведены всесторонние исследования по выявлению наиболее «узкого» места в процессах миграции, детоксикации, влияния на органолептические свойства, пищевую ценность выращиваемых растений, воздействия на организм экспериментальных животных и почвенный микробиоценоз, здоровье и санитарные условия жизни населения нормируемого химического вещества. При этом определяют пороговые количества химического вещества по общесанитарному, миграционно-водному, миграционно-воздушному, органолептическому, фитоаккумуляционному (транслокационному) и токсикологическому показателям вредности. На основе пороговых количеств по каждому показателю выбирают лимитирующий показатель вредности, по которому устанавливается ПДК.

Положение 7. ПДК химических веществ в почве является единой величиной для любых почвенно-климатических условий с коэффициентом запаса прочности, позволяющим при эколого-гигиеническом регламентировании учитывать конкретные региональные природно-ландшафтные особенности.

Положение 8. По установленной единой ПДК химического вещества в почве определяют локальный регламент для условий конкретного почвенно-климатического региона. При расчете данной величины учитывают ведущие

факторы, от которых зависят токсичность соединений, их миграция, детоксикация и образование метаболитов в почве. К этим факторам в первую очередь относятся температура и влажность почвы, содержание гумуса, pH почвы, пористость, бактериальная обсемененность и др. Коэффициенты, характеризующие воздействие этих факторов на процессы миграции и детоксикации химических веществ, находят на основании исследований, проведенных на натурных образцах почвы данного региона. После обработки данных этих экспериментов, на основании единой ПДК, значения поправочных коэффициентов используют для расчета величин *предельно допустимого внесения* (ПДУВ) и *безопасного остаточного количества* (БОК) изучаемого химического соединения для конкретных почвенно-климатических условий, т.е. для оценки фактического загрязнения почвы в качестве максимально допустимого эколого-гигиенического регламента целесообразно использовать не ПДК, а рассчитанную на ее основе величину БОК.

Сформулированные выше теоретические положения позволяют определить *ПДК вредного вещества в почве как максимальное его количество (исчисляемое в миллиграммах на килограмм пахотного слоя почвы), установленное в экстремальных почвенно-климатических условиях, которое гарантирует отсутствие прямого или опосредованного отрицательного влияния на здоровье человека, самоочищающую способность почвы и соприкасающиеся с почвой среды.*

14.2. АЛГОРИТМ ОБОСНОВАНИЯ ПДК ВРЕДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПОЧВЕ

Основной методической особенностью изучения опасности загрязнения почвы химическими веществами является то, что они, попадая в почву, в отличие от веществ, загрязняющих атмосферный воздух и питьевую воду, действуют на организм человека опосредованно. После попадания химических веществ в почву они могут поступать по корневой системе и накапливаться в сельскохозяйственных растениях, мигрировать при испарении, соиспарении и сублимации в атмосферный воздух, вымываться инфильтрующимися водами в подземные водоносные горизонты, ливневыми или талыми водами транспортироваться в открытые водоемы. Иными словами, химические загрязнения могут попадать во все среды, контактирующие с почвой, и уже через них в дальнейшем поступать в организм человека. Следовательно, при оценке токсичности и опасности почвенных химических загрязнений необходимо проведение качественных и количественных исследований всех экологических цепей, по которым возможно поступление загрязнений из почвы в организм человека. Такими экологическими цепями являются следующие:

- почва – растительные продукты – человек;
- почва – сельскохозяйственные растения – животные – человек;
- почва – подземные воды – человек;
- почва – открытый водоем – человек;
- почва – открытый водоем – водные растения – рыба – человек;
- почва – подземные воды – открытый водоем – человек;
- почва – атмосферный воздух – человек и т.д.

Систематическое поступление минимальных количеств токсических веществ в организм человека с продуктами питания (основной путь поступления), питьевой водой, атмосферным воздухом может привести к хроническим интоксикациям с неблагоприятными отдаленными последствиями. Поэтому ограничение поступления вредных веществ в почву – одна из важнейших задач экологической токсикологии, которая должна решаться путем научно обоснованного эколого-гигиенического регламентирования химических загрязнений почвы.

Таким образом, центральным методологическим вопросом эколого-гигиенического регламентирования содержания химических соединений в почве является определение *показателей безопасности* для здоровья населения. При этом гипотеза о том, что не всякое химическое поступление в почву следует рассматривать как опасное загрязнение, допускает разумную химизацию сельского хозяйства при условии соблюдения системы эколого-гигиенических регламентов, которые обеспечивают охрану здоровья населения и почвы от опасных уровней загрязнения.

Под *порогом безопасного действия* химических веществ, опосредованно поступающих в организм людей из почвы, подразумевается такое их действие (одномоментное, суточное, годовое, в течение всей жизни), которое не вызывает функциональных, биохимических, структурных изменений в организме выше границ, при превышении которых могут наступить сдвиги в организме, опасные для здоровья человека или его потомства. Под *порогом вредного биологического действия* нормируемого химического вещества следует понимать переход количественных физиологических, биохимических или структурных изменениий в качественные, имеющие характер предпатологии. Под *порогом экологической адаптационной возможности* почвы следует подразумевать такое действие регламентируемого вредного вещества на почву, при котором количественные изменения самоочищающей способности переходят в качественные, выражающиеся в нарушении времени и скорости процессов самоочищения, характерных для данного вида почвы в определенном климато-ландшафтном регионе. Таким образом, в почве допускается такое содержание химических соединений, которое гарантирует отсутствие возможности отрицательного воздействия на здоровье населения как при прямом контакте человека с почвой (заглатывание и вдыхание при проведении ручных и механизированных работ почвенной пыли, содержащей токсиканты, их поступление в организм через кожные покровы, загрязненные почвенной пылью), так и опосредованно, при миграции токсиканта по одной, нескольким или суммарно по всем экологическим цепям, а также не нарушает процессов самоочищения почвы и не влияет на санитарные условия жизни.

Таким образом достигается создание значительного запаса прочности ПДК при количественном определении безопасных уровней воздействия вредных химических веществ. Для моделирования экстремальных условий эксперимент необходимо проводить на почве, обладающей максимальной фильтрующей, минимальной сорбционной и поглотительной способностью. Таким ти-

пом почвы является песчаная почва. Соблюдение принципа экстремальности обеспечивается также проведением исследований при микроклиматических параметрах (температура, влажность, ультрафиолетовое излучение и др.), способствующих максимальной миграции испытуемых веществ в контактирующие среды. Помимо почвенных и микроклиматических условий для создания экстремальности следует использовать в эксперименте *растения-концентраторы*, максимально накапливающие данное соединение при его минимальном содержании в почве. Например, для хлорорганических пестицидов и производных мочевины такими растениями чаще всего могут быть представители рода крестоцветных (редис Сакса), а для фосфорорганических пестицидов и тяжелых металлов – злаковые (кукуруза, овес, пшеница). Для таких накопителей, или концентраторов почвенных загрязнений, существует профессиональный термин «*фитотест-претенденты*», из которых отбирают одно растение, в наибольшей степени накапливающее изучаемое соединение, и оно получает новый статус «*фитотест*». На фитотест-растении и проводят основные исследования по установлению пороговой концентрации токсикантов в почве, при которой в испытуемом растении-концентраторе будет накапливаться химическое вещество на уровне допустимого остаточного количества (ДОК) для данного вида. Помимо этого в качестве фитотеста обязательно используют растение, для защиты, стимуляции и удобрения которого прежде всего и предназначено изучаемое соединение или основной вид растений, произрастающих в зоне техногенного загрязнения. Из этих двух фитотест–растений выбирают для установления ПДК то, которое максимально накапливает изучаемое вещество при наименьшей пороговой концентрации в почве. Затем рассчитывают на весь суточный рацион пищевых продуктов растительного происхождения (0,9 кг/сут), принимая условно, что в них может накапливаться столько же токсиканта, сколько в растении-концентраторе при пороговой концентрации данного соединения в почве. Этот расчет осуществляют для нахождения максимального количества химического вещества, поступающего в организм человека в экстремальных условиях с пищевыми продуктами растительного происхождения. Затем установленную таким образом величину сравнивают с максимально допустимой дозой поступления ксенобиотика в организм человека, с тем чтобы она не была превышена. При эколого–гигиеническом регламентировании перечисленные экстремальные условия эксперимента создают для конкретных (региональных) почвенно-климатических условий значительный запас прочности, коэффициент которого колеблется от 10 до 20.

Все эти особенности отразились на создании принципиальной схемы нормирования химических веществ в почве, которая значительно отличается от схем регламентирования содержания поллютантов в воде водоемов и атмосферном воздухе.

14.3. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ ЭКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКОГО РЕГЛАМЕНТИРОВАНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ВРЕДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПОЧВЕ

Рассмотрим подробней специфику этапов экспериментального установления величин гигиенических регламентов в почве (ПДК, ПДУВ, БОК).

Этап I. На этом этапе исследований получают данные о физико–химических свойствах вещества и изучают его стабильность в почве. Под *стабильностью* следует понимать устойчивость экзогенного химического вещества к воздействию биотических и абиотических факторов среды, характеризующуюся величинами периодов полуисчезновения (T_{50}) и полного исчезновения (T_{99}). В связи с тем, что персистентность вещества зависит от его исходной концентрации в почве, следует указывать ее в виде индекса. Например, T_{99} – период полного распада поллютанта при внесении его в почву из расчета мг/кг. При оценке результатов определения стабильности изучаемых соединений в почве необходимо руководствоваться положением о том, что вещества с периодом полного распада в 5–7 дней (если они нелетучи и продукты их деструкции нетоксичны) считаются для нормирования неперспективными. Кроме того, следует отметить, что большинство неорганических соединений (например, тяжелые металлы, микроудобрения и др.) процессам деструкции в почве не подвергаются, а потому в этих случаях изучают изменение их свойств (например, валентность) в зависимости от почвенных условий – pH, окислительно-восстановительного потенциала.

Указанные сведения необходимы для обоснования приоритетности проведения изучения вещества и выбора рабочих (исходных для исследования) концентраций. В первую очередь в почве должны нормироваться стойкие химические вещества (пестициды и их метаболиты, соли тяжелых металлов, микроэлементы, нефтепродукты, сернистые соединения, минеральные удобрения), а также вещества, систематически поступающие в почву.

Для обоснования рабочих концентраций необходимо установить, в каких количествах изучаемое вещество встречается в природе, в каких производственных процессах и в каких объемах оно используется в сельском хозяйстве, каковы уровни загрязнения почвы. Необходимы сведения о параметрах токсичности вещества и механизмах токсического действия, данные о нормативах содержания в смежных средах, количественные и качественные методы обнаружения вещества и его метаболитов в почве, воде, воздухе, растениях, биологическом материале.

Так, за исходные концентрации пестицидов, минеральных удобрений, микроудобрений, стимуляторов роста растений и др. принимают концентрации, которые создаются в почве при рекомендуемых нормах расхода препарата. За исходную концентрацию химических веществ, поступающих в почву со сточными водами, промышленными выбросами, выхлопными газами автомобилей, принимают уровень естественного содержания вещества в кларках.

Этап II. На втором этапе проводят математическое моделирование поведения химического вещества в почве с целью обоснования объема экспериментальных исследований и ориентировочных пороговых концентраций по

каждому показателю вредности. Для этого используют разработанные математические модели, имитирующие и описывающие процессы миграции, транслокации и детоксикации химических веществ в почве. Предварительное моделирование позволяет определить необходимость тех или иных экспериментальных исследований на основании расчета возможного уровня миграции в контактирующие среды по физико-химическим константам химического вещества (растворимость, давление насыщающих паров, летучесть и т.д.) и спланировать необходимые исследования.

Этап III. На третьем этапе исследований с целью установления *лимитирующего показателя вредности* и величины ПДК химического вещества в почве проводят лабораторный эксперимент на *модельном почвенном эталоне* (МПЭ) с соблюдением принципа экстремальности по обоснованию пороговых концентраций показателей вредности.

В естественном (натурном) эксперименте при существующем многообразии возможных комбинаций почвенно-климатических факторов создать абсолютно одинаковые условия невозможно. Такие стандартные условия можно получить лишь в лабораторном эксперименте, который и лежит в основе установления ПДК вредных веществ в почве на данном этапе. Экспериментальное обоснование ПДК вредных веществ проводят на модели почвы, имитирующей экстремальные почвенные условия, предполагающие максимальное поступление химического вещества из почвы в атмосферный воздух, воду и растения. Наиболее подходящей почвой такого типа по механическому составу, обладающей максимальной сорбционной и поглотительной способностью, как уже говорилось, является песчаная. Для создания экстремальных почвенных условий применяется метод песчаных культур, основанный на использовании для выращивания растений смеси средне- и мелкозернистого карьерного песка. Эта смесь пригодна в качестве МПЭ для определения миграции вредных веществ из почвы в растения, атмосферный воздух, грунтовые и поверхностные воды, а также для изучения степени воздействия вредных веществ на почвенный микробиоценоз. Возможно проведение лабораторного эксперимента на нескольких типах МПЭ.

Использование МПЭ позволяет обеспечить:

1) проведение исследований по миграции химических веществ в контактирующие среды в единых сопоставимых условиях эксперимента;

2) максимальную миграцию изучаемого вещества из почвы в атмосферный воздух, воду и высшие растения;

3) проведение (при необходимости) специальных исследований при различных почвенных условиях (влажность, pH, содержание гумуса и др.), что очень важно для определения коэффициентов пересчета для других видов почвы при обосновании величины ПДУВ.

Лабораторные исследования по обоснованию *пороговых концентраций* проводят по шести *показателям вредности*[35] с целью установления лимитирующего показателя вредности и величины ПДК химического вещества в почве:

---

[35] Подробнее см. следующий раздел.

– органолептическому;
– общесанитарному;
– фитоаккумуляционному (транслокационному);
– миграционно-водному;
– миграционно-воздушному;
– токсикологическому (санитарно-токсикологическому).

Оценка каждого показателя вредности выполняется по установленной в эксперименте пороговой концентрации химического вещества в почве, соответствующей наиболее чувствительному показателю.

Тот из шести показателей вредности, который по результатам лабораторного эксперимента имеет наименьшую пороговую величину, избирают как *лимитирующий показатель вредности* (при нормировании по токсикологическому показателю за ПДК принимают подпороговые величины). Таким образом, ПДК устанавливают по тому признаку вредности, который характеризуется наименьшей пороговой или подпороговой (для токсикологического признака) величиной. Найденная таким способом ПДК гарантирует, что концентрации вредного вещества в почве по другим пяти показателям вредности никогда не превысят соответствующих пороговых величин.

Пример. При изучении миграции пестицида гептахлора (ГПХ) из почвы в контактирующие среды были установлены пороговые концентрации по следующим показателям:

– органолептическому – 0,051 мг/кг;
– фитоаккумуляционному – 0,053 мг/кг;
– общесанитарному – 1,5 мг/кг;
– миграционно-водному – 0,1 мг/кг;
– миграционно-воздушному – 0,5 мг/кг;
– подпороговая концентрация по токсикологическому показателю – 0,05 мг/кг.

Из приведенных данных видно, что для ГПХ лимитирующим показателем (наиболее «узким местом») является токсикологический показатель, и подпороговая концентрация по нему (0,05 мг/кг) должна быть принята за ПДК.

Следует иметь в виду, что ПДК вредного вещества – это научно обоснованная единица масштаба измерения загрязнения окружающей среды и его опасности для здоровья населения, но ПДК не свидетельствует о степени опасности загрязнения почвы в конкретных почвенно–климатических условиях для здоровья населения. Для этого рассчитываются показатели ПДУВ и БОК, которые учитывают эти особенности и выполняют функции «региональных» ПДК.

Этап IV. На четвертом этапе проводят лабораторные и натурные исследования почвы и на основании их результатов определяют расчетными методами величины ПДУВ и БОК вредных веществ для конкретных почвенно–климатических условий. Исследования почвы проводят для определения функциональной зависимости скорости деструкции (детоксикации) и миграции загрязняющего почву химического вещества от содержания в ней гумуса, пористости, pH, бактериальной обсемененности и ферментативной активности почвы, средней и максимальной температуры почвы за вегетационный

период, влажности, продолжительности инсоляции и других почвенно–климатических факторов. Примеры расчета ПДУВ и БОК будут приведены ниже.

Этап V. На пятом этапе изучают влияние загрязненной химическими веществами почвы в натурных условиях на состояние здоровья населения с целью корректировки гигиенических регламентов содержания химических загрязнителей в почве (ПДК, ПДУВ, БОК).

Интегральным показателем загрязнения почвы химическими веществами является здоровье населения, проживающего в районе интенсивного применения ЭХВ, и только при изучении показателей здоровья можно дать гигиеническую оценку имеющемуся загрязнению и указать способы устранения или ослабления отрицательных факторов, вызывающих и поддерживающих заболеваемость, а также скорректировать величины существующих гигиенических регламентов содержания ЭХВ в почве.

Программа изучения влияния ЭХВ на здоровье населения включает в себя:

1. Проведение выбора зон наблюдения (опытной и контрольной) на основании санитарного обследования и анализа данных об уровнях внесения и фактического содержания ЭХВ в почве.
2. Изучение состояния здоровья населения.
3. Установление наличия причинно-следственной связи между показателями состояния здоровья населения и фактическим содержанием ЭХВ в почве и контактирующих с ней средах.

Изучение влияния почвы, загрязненной ЭХВ, на состояние здоровья населения имеет ряд особенностей, основными из которых являются:

1. Обязательное проведение исследований не только почвы, но и всех экологических цепей, по которым возможно поступление загрязнений из почвы в организм человека.
2. Выбор сельского населения в качестве объекта наблюдения, что позволяет при анализе состояния здоровья исключить многочисленные и постоянно действующие неблагоприятные факторы городской среды (шум, вибрация, электромагнитные поля, атмосферные выбросы промышленных предприятий и др.).
3. Выбор наиболее чувствительной и «чистой» в методическом плане модели (группы) наблюдения.

Наиболее информативными и презентабельными для таких исследований являются системы «беременная женщина – плод», «кормящая мать – грудной ребенок» и группы лиц пожилого возраста, постоянно проживающие в зонах интенсивного загрязнения почвы, и лиц, имеющих длительный профессиональный контакт с ЭХВ.

4. Выбор в качестве района наблюдения, в котором будут проводиться исследования влияния ЭХВ на здоровье населения, региона, где данное химическое вещество применяется впервые.
5. Выбор однотипных по условиям районов наблюдения и контрольного.

К группе факторов, которые должны быть однотипными, относятся:

1) Природно-климатические (географическое расположение, высота над уровнем моря, климат, интенсивность солнечной и ультрафиолетовой радиа-

ции, температура, влажность и скорость движения воздуха, атмосферное давление, количество осадков);

2) Социально-гигиенические и экономические (административно-территориальное расположение, уровень и характер экономического развития, качество и доступность медицинского обслуживания, численность и плотность населения, обеспеченность автодорогами, материально-бытовые условия жизни).

Изучение влияния почвы, загрязненной ЭХВ, на здоровье населения позволяет:

1) определять зоны с повышенным содержанием ЭХВ в почве;

2) проводить длительные наблюдения за здоровьем отдельных групп сельского населения в зависимости от уровня загрязнения почвы и контактирующих с ней сред;

3) разрабатывать профилактические и оздоровительные мероприятия, направленные на своевременное предупреждение неблагоприятного влияния ЭХВ на здоровье сельского населения.

Таким образом, в почве допускается такое содержание ЭХВ, которое:

1) гарантирует отсутствие отрицательного воздействия на здоровье населения:

– при прямом контакте человека с почвой (заглатывание и вдыхание почвенной пыли, содержащей ЭХВ, при ручных и механизированных работах, поступление ЭХВ с почвой в организм человека через кожу, загрязненную почвенной пылью);

– опосредованного при миграции токсичного вещества по одной или нескольким экологическим цепям (почва – растение – человек; почва – растение – животное – человек; почва – атмосферный воздух – человек; почва – вода – человек и др.) или суммарно по всем цепям;

2) не нарушает процессов самоочищения почвы;

3) не влияет на санитарные условия жизни.

14.4. ЭКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВРЕДНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ПОЧВЕ

Рассмотрим подробнее показатели вредности химических веществ и требования к установлению соответствующих им пороговых концентраций.

Органолептический показатель вредности характеризует изменение запаха атмосферного воздуха, вкуса, цвета и запаха воды, пищевых продуктов и их пищевой ценности.

Под *пороговой концентрацией по органолептическому показателю* понимают то максимальное количество вредного вещества в почве (мг/кг абсолютно сухой почвы), которое не влияет на органолептические свойства атмосферного воздуха, воды и продуктов питания, полученных из растений, выросших на загрязненной этим веществом почве, а также не снижает их пищевой ценности.

При обосновании пороговой концентрации могут быть использованы данные органолептических исследований, полученные при установлении ПДК для воды, атмосферного воздуха и ДОК для пищевых продуктов растительного происхождения. Воздействие на органолептические свойства и пищевую ценность продуктов изучают на растениях, максимально накапливающих изучаемое вредное вещество. Однако предпочтительнее провести дополнительные исследования в экстремальных условиях, которые обеспечиваются следующими параметрами эксперимента:

– влияние на органолептические показатели атмосферного воздуха изучают при температуре 50°С;

– влияние загрязняющих веществ на органолептические свойства воды исследуют при двух температурах 4 и 100°С. Выбор этих температур в качестве экстремальных обусловлен тем, что при температуре 4°С наблюдается максимальная растворимость газов в воде, а при температуре 100°С – твердых веществ. Кроме того, в этих условиях температурного воздействия химические соединения могут разрушаться с образованием метаболитов, обладающих более выраженным органолептическим воздействием;

– воздействие на органолептические свойства и пищевую ценность продуктов изучают на растениях, максимально накапливающих изучаемое соединение.

После проведения всего комплекса исследований за пороговую концентрацию по органолептическому критерию вредности принимается наименьшая из установленных в различных экспериментах (влияние на запах, привкус, цвет и др.).

Общесанитарный показатель вредности характеризует процессы изменения биологической активности почвы и показателей самоочищения почвы от загрязнения органическими веществами. *Пороговой концентрацией по общесанитарному показателю вредности* является то максимальное количество химического вещества в почве (мг/кг абсолютно сухой почвы), которое не вызывает на 5–7-е сутки изменений общей численности почвенных микроорганизмов основных физиологических групп (спорообразующих бактерий, грибов, актиномицетов и др.) более чем на 50%, а также ферментативной активности почвы (инвертазной, дегидрогеназной, нитрифицирующей и др.) более чем на 25% относительно аналогичных показателей контрольной пробы.

Лабораторные исследования для установления пороговой концентрации по указанному показателю проводят в условиях, максимально способствующих выявлению воздействия вредного вещества на почвенный микробиоценоз (соблюдение принципа экстремальности): при температуре 20–30ºС и влажности 60% от полной влагоемкости почвы. Исследования проводят в 2 этапа: предварительный (ориентировочный) и основной (экспериментальный). Целью предварительных исследований являются:

– выбор рабочих концентраций для проведения основных экспериментальных исследований;

– выявление необходимости проведения исследований с санитарно–показательными микроорганизмами (*Esherichia coli*, энтерококки, споровые бактерии);

– определение группы наиболее чувствительных микроорганизмов почвенного микробиоценоза.

Обязательные исследования должны включать:

– изучение динамики общей численности почвенной микрофлоры, кишечной палочки;

– исследование численности и активности тест-микроорганизмов, выявленных в результате предварительных опытов.

Фитоаккумуляционный (транслокационный) показатель вредности характеризует процесс миграции химического вещества из почвы в культурные растения, используемые в качестве продукта питания или фуража, и накопление его в фитомассе. Под *пороговой концентрацией по фитоаккумуляционному показателю вредности* подразумевают максимальное количество химического вещества в почве (мг/кг абсолютно сухой почвы), при котором накопление вещества фитомассой товарных органов сельскохозяйственных растений к моменту сбора урожая не превысит установленных для продуктов питания ДОК.

Обоснование пороговой концентрации по фитоаккумуляционному критерию вредности относится к числу основных и обязательных критериев эколого-гигиенического регламентирования содержания химических веществ в почве. Накопленный опыт нормирования почвенных загрязнений позволяет рекомендовать изучение величины миграции токсикантов в растения в несколько этапов.

На первом этапе при наличии математических моделей для близких по химическим свойствам соединений рассчитывают по формуле ОПК в почве по данному критерию, позволяющую определить рабочие концентрации для экспериментальных исследований:

$$\text{ОПК} = \text{ДОК}\, x M(t_i) x C_c(t_0) / C_p(t_1), \qquad (14.1)$$

где ДОК – установленное допустимое остаточное количество вещества в продуктах питания, мг/кг; $M(t)$ – масса растений, выросших на 1 кг почвы к моменту сбора урожая, кг; $C_c(t_0)$ – содержание препарата в почве в момент внесения, мг/кг; $C_p(t_1)$ – содержание препарата в фитомассе к моменту уборки урожая, мг/кг; t_1 – вегетационный период, сут.

На втором этапе определяют фитотоксичность изучаемого соединения, в первую очередь для растений, на которых применяют препарат или для которых они представляют опасность при загрязнении окружающей среды. Обоснование рабочих концентраций не имеет отличий от описанных ранее подходов, а способ внесения исследуемого вещества в МПЭ определяется условиями его поступления в почву. Для обеспечения принципа экстремальности при обосновании транслокационного критерия вредности исследования проводятся на МПЭ № 2 и на тест-растениях. Наиболее целесообразно использование биологического теста на прорастание семян как простого, доступного и высокочувствительного. Он основан на наличии зависимости между концентраци-

ей вещества в почве и степенью воздействия на предлагаемый биотест. Показателями воздействия изучаемого поллютанта являются: всхожесть семян (процент по отношению к контролю), длина корней проростков (процент торможения их развития относительно контроля). Действующей может быть признана такая концентрация вещества, которая вызвала торможение развития корней проростков не менее чем на 20%. Если исследуемые семена не прорастают или длина их корней не достигает и половины длины контрольных ростков, то и визуально можно констатировать, что испытуемая концентрация вещества оказывает неблагоприятное воздействие. Наиболее удобными в работе при использовании теста на проращивание являются такие культуры, как злаковые (пшеница, ячмень, овес), бобовые (горох), овощные (огурцы) и горчица белая. Нецелесообразно использование культуры редиса (в связи с хрупкостью и изогнутостью его корней) и моркови (вследствие длительного периода прорастания семян). Использование этого теста позволяет в краткосрочном эксперименте установить чувствительные к изучаемому веществу культуры, а также характер и направленность его действия.

На третьем этапе исследований по установлению фитоаккумуляционного критерия вредности проводится эксперимент в вегетационных сосудах, заполненных МПЭ № 2 с выбранными ранее растениями фитотест-претендентами, для которых изучаемое соединение нетоксично и максимально ими накапливается. Целью данного этапа является окончательное уточнение фитотест-растения, а также количественное изучение и оценка процессов, протекающих в системе почва – растение: деструкция, транслокация, биотрансформация и др. Для достижения этой цели используется такой показатель, как содержание препарата и его метаболита в товарной массе растений. Кроме того, рассчитываются коэффициенты их распределения, скорость миграции и трансформации.

Заключительным, четвертым этапом изучения транслокационного критерия вредности является натурное исследование на легких подзолистых почвах и всех местных видах почвы с целью определения коэффициента запаса для данных условий и последующего расчета ПДУВ и БОК. Величину пороговой концентрации токсиканта в почве по данному критерию находят по сопоставлению установленных в процессе эксперимента концентраций в тест-растении с его почвенным содержанием. Концентрация химического вещества в почве, при которой его содержание в тест-растении находится на уровне ДОК, и будет пороговой концентрацией по фитоаккумуляционному критерию вредности. При отсутствии ДОК для данного соединения рекомендуется использование следующего расчетного метода, где в качестве отправной точки применяется пороговая доза токсикологического эксперимента по регламентированию содержания изучаемого вещества в воде водоемов и атмосферном воздухе. Эта величина умножается на среднюю массу тела человека (60 кг), что позволяет получить МНД для его организма. Известно, что 80% от МНД поступает в организм человека с пищей, причем в сутки человек потребляет 0,9 кг пищевых продуктов растительного происхождения. Исходя из этого, величина ДОК для пищевых продуктов растительного происхождения будет составлять:

$$ДОК = 80\% от МНД/0,9. \quad (14.2)$$

Миграционно-водный показатель вредности характеризует процессы миграции химического вещества в поверхностные и подземные (грунтовые) воды. *Пороговой концентрацией по миграционно-водному показателю вредности* является максимальное количество вредного вещества в почве (мг/кг абсолютно сухой почвы), при котором поступление химического вещества в грунтовые воды и водоисточники с поверхностным стоком не создает концентраций, превышающих ПДК в воде водоемов.

Исследования по изучению миграционно-водного показателя вредности проводят по 2 направлениям:

– количественное изучение процесса миграции вредного вещества в подземные воды;

– количественное изучение процесса миграции вредного вещества с поверхностным стоком.

При исследовании миграции токсикантов в подземные воды создаются экстремальные условия за счет использования МПЭ № 1, а количество осадков, поступающих на экспериментальную установку, должно соответствовать наиболее высоким показателям Европы, причем их годовое количество подается в течение месяца. Выбор исходных концентраций базируется на максимальных нормах расхода и естественном содержании, а дальнейший подбор рабочих концентраций направлен на получение в фильтрате изучаемого химического вещества в количестве, соответствующем уровню его ПДК в воде водоемов. С этой целью увеличивают содержание токсиканта в почве относительно исходного в 2, 4, 6, 8 и 10 раз до тех пор, пока его концентрация в фильтрате не будет равна водному регламенту. Например, при исходном содержании в почве вещества А в фильтрате оно определялось на уровне 0,3 ПДК; при увеличении его почвенной концентрации в 2 раза – 0,5 ПДК; в 4 – 0,8 ПДК; в 6 – 1 ПДК. Следовательно, концентрация, в 6 раз превышающая исходную, может быть принята в качестве пороговой по изучаемому показателю. Если же проведение исследований на уровне исходной концентрации обнаруживало в фильтрате содержание изучаемого вещества, соответствующее сотым долям ПДК, то целесообразно сразу испытывать концентрации токсиканта, в 10 и 100 раз превышающие исходную концентрацию.

Используемый при оценке миграционных процессов загрязняющих веществ с поверхностным стоком принцип экстремальности базируется на четырех положениях:

– в качестве почвы используют МПЭ № 1;

– влажность МПЭ составляет 100% от полной влагоемкости;

– количество воды, подаваемое на экспериментальную установку, соответствует уровню максимального разового выпадения осадков на Европейской территории;

– угол наклона экспериментальной установки равен максимальному углу наклона для обрабатываемых сельскохозяйственных угодий (15°).

Благодаря соблюдению этих требований при экспериментальном получении процесса миграции химических веществ с поверхностным стоком создаются условия, способствующие их максимальной миграции. Выбор исходной и рабочих концентраций осуществляется на той же принципиальной основе, что и в предыдущих исследованиях. Содержание изучаемого вещества в воде поверхностного стока определяют в последовательно отобранных пробах как жидкой, так и твердой части смыва, а сопоставление установленной концентрации препарата с его ПДК в воде водоемов позволяет установить пороговую концентрацию по изучаемому показателю.

Таким образом, определяются показатели двух направлений исследования, и выявленная наименьшая концентрация считается пороговой по миграционно-водному критерию вредности.

Миграционно-воздушный показатель вредности характеризует процессы поступления химического вещества из почвы в атмосферный воздух с почвенной пылью и путем испарения и соиспарения с водными парами и другими носителями. *Под пороговой концентрацией по миграционно-воздушному показателю вредности* понимается то количество вещества в почве (мг/кг абсолютно сухой почвы), при котором поступление соединения в атмосферный воздух не сопровождается превышением установленной среднесуточной ПДК.

При создании экстремальных условий исследований учитывают следующее:

– все исследования проводят на почве, обладающей минимальными сорбирующими свойствами (МПЭ № 1) из смеси средне- и мелкозернистого карьерного песка с определенными физико-химическими свойствами;

– исследования осуществляют при климатических условиях (температура, влажность, интенсивность УФ-облучения), способствующих максимальной миграции вредного вещества из почвы в атмосферный воздух.

Исследования предусматривают несколько этапов:

1. Обоснование необходимости проведения исследований по указанному показателю.

2. Математическое моделирование процессов миграции вредного вещества из почвы в атмосферный воздух и обоснование ориентировочного порогового количества вредного вещества по показателю вредности.

3. Определение в эксперименте пороговой концентрации вредного вещества по миграционно-воздушному показателю.

На первом этапе по уравнению Менделеева – Клапейрона рассчитывают максимально возможную концентрацию вещества в воздухе при определенной температуре, которая сопоставляется со среднесуточной ПДК. Если рассчитанная максимально возможная концентрация вещества в атмосферном воздухе выше его ПДК, то исследования по миграционно-воздушному показателю обязательны, в противном же случае – не нужны. Однако следует учесть, что соединение может поступать в воздух не только за счет испарения, но и при соиспарении, сублимации и других процессах, что делает экспериментальные исследования желательными даже для нелетучих веществ.

Вторым этапом является математическое моделирование процесса миграции соединений из почвы в атмосферный воздух и предварительное обосно-

вание ориентировочного порогового количества вещества в почве по данному критерию вредности. Следует учитывать тот факт, что часть вносимого на поверхность почвы вещества диффундирует во внутренние слои почвы, и с учетом этого скорость изменения концентрации вещества на поверхности почвы будет определяться двумя процессами: миграцией в воздух и диффузией в почву, что можно представить следующим дифференциальным уравнением:

$$\frac{dC_{\text{п}}}{dt} = -(\lambda_{\text{в}} + \lambda_{\text{п}})C_{\text{п}} = -\lambda C_{\text{п}}, \qquad (14.3)$$

где $C_{\text{п}}$ – количество вещества, оставшегося на поверхности почвы в момент времени t, мг; t – время; $\lambda_{\text{в}}$ – константа, характеризующая скорость процесса миграции вещества в атмосферный воздух; $\lambda_{\text{п}}$ – константа, характеризующая скорость процесса диффузии вещества в почве; $\lambda = \lambda_{\text{в}} + \lambda_{\text{п}}$ – константа, характеризующая суммарную скорость убывания вещества с поверхности почвы. Таким образом, процесс миграции веществ из почвы в атмосферный воздух для любой концентрации препарата, наносимого на поверхность почвы, может быть описан следующим уравнением:

$$C_{\text{в}} = \frac{\lambda_{\text{в}}}{\lambda} C_{\text{п}_0} e^{-\lambda t}, \qquad (14.4)$$

где $C_{\text{в}}$ – концентрация вещества в воздухе, мг/м^3; $C_{\text{п}_0}$ – исходная концентрация вещества, мг/кг; e – основание натурального логарифма, равное 2,73; t – время; $\lambda_{\text{в}}$ – константа, характеризующая скорость миграции вещества в атмосферный воздух; λ – константа, характеризующая суммарную скорость убывания вещества с поверхности почвы.

На третьем этапе проводятся исследования по комплексному обоснованию пороговой концентрации изучаемого критерия вредности с учетом явлений испарения, соиспарения и сублимации, которые осуществляются в специальных микроклиматических камерах или переоборудованных для этих целей термостатах. Для химических веществ, преднамеренно вносимых в почву (пестициды, минеральные удобрения и др.), испытывают две концентрации, первая из которых соответствует максимально рекомендуемой дозе препарата, а вторая – в 20 раз ее превышает. Необходимость испытания второй концентрации объясняется тем, что сразу после внесения токсикантов в поверхностном слое создаются концентрации, в 20 раз превышающие таковые при распределении вносимого препарата по всему пахотному слою. Для промышленных поллютантов почвы исходными испытываемыми концентрациями являются максимальное их содержание в естественных условиях, а также величина в 20 раз его превышающая. Пробы воздуха отбирают сразу после загрузки рабочей камеры и достижения необходимых температурных параметров, а затем на 2-е, 3-и сутки до установления его концентрации в анализируемом воздухе на уровне ПДК, но не менее 2 недель.

Токсикологический (санитарно-токсикологический) показатель вредности характеризует эффект действия суммарного количества химического вещества при комплексном и сочетанном (почвенная пыль и вредное вещество) поступлении этого соединения из почвы в организм с водой, пищей, воздухом, через кожу, слизистые оболочки верхних дыхательных путей и полости рта. Под пороговой концентрацией по *токсикологическому (санитарно-токсикологическому) показателю вредности* понимается такое количество химического вещества в почве (мг/кг абсолютно сухой почвы), при котором поступление этого вещества в организм человека при непосредственном контакте с почвой, по одному или нескольким путям миграции, а также при воздействии вредного вещества через все возможные пути, не наблюдается прямого или отдаленного действия на здоровье популяции (населения). Исследования по этому критерию вредности проводят как для определения основных токсикологических характеристик химического соединения ($ЛД_{50}$, $К_к$, МНД и др.) в случае их отсутствия, так и для нахождения пороговой концентрации. Для нахождения порога по токсикологическому критерию эксперимент проводят по общепринятой методике изучения комплексного влияния на организм химического вещества. При этом в качестве исходной концентрации изучаемого вещества выбирают такую концентрацию, которая обеспечит поступление в организм суммарной дозы, создающейся в контактирующих с почвой средах при содержании соединения в почве на уровне норм расхода препарата.

Методическими особенностями определения пороговой концентрации ЭХВ в почве по указанному показателю являются:

– обязательное наличие установленных ПДК и ДОК в контактирующих с почвой средах (атмосферный воздух, вода, пищевые продукты);

– предварительное определение пороговых концентраций по трем основным миграционным показателям вредности: водно-миграционному, воздушно-миграционному, фитоаккумуляционному.

Первое тебование исключает необходимость всесторонних токсикологических исследований. Так, наличие установленных ПДК для контактирующих с почвой сред позволяет, во-первых, полностью исключить постановку острого и подострого токсикологических экспериментов, так как показатели токсикометрии, полученные в остром и подостром опытах при установлении ПДК для воды, атмосферного воздуха или ДОК для пищевых продуктов, могут быть использованы при обосновании пороговой концентрации ЭХВ в почве по токсикологическому показателю вредности. Во-вторых, наличие ПДК и ДОК для контактирующих сред позволяет свести до минимума исследования при проведении хронического токсикологического эксперимента. Последнее обусловлено тем, что в хроническом эксперименте при установлении пороговой концентрации ЭХВ в почве по токсикологическому показателю вредности нет необходимости поиска наиболее чувствительных и специфических показателей, в том числе и показателей отдаленных последствий. Они устанавливаются по материалам, полученным при обосновании ПДК и ДОК в контактирующих средах. Однако лишь проведение хронических экспериментов с определенными концентрациями ЭХВ в почве позволяет в последующем найти пороговую концентрацию ЭХВ в почве по токсикологическому показателю вредности почвы.

Второе требование – обязательное предварительное определение пороговых концентраций по 3 основным миграционным показателям вредности

(транслокационному, водному и воздушному) дает возможность из этих показателей выбрать лимитирующий. Пороговая концентрация этого лимитирующего показателя вредности почвы будет гарантировать накопление изучаемого вредного вещества одной из контактирующих сред на уровне ПДК или ДОК, а в двух других – на более низких уровнях.

Эту минимальную пороговую концентрацию вредного вещества в почве, установленную по лимитирующему показателю вредности для трех путей миграции (транслокационного, водного и воздушного), принимают за исходную или ориентировочную пороговую концентрацию в почве по токсикологическому показателю вредности, так как при данном содержании транслокационного, водного и воздушного показателей в почве даже в экстремальных почвенно-климатических условиях исключается накопление ЭХВ в количествах, превышающих ДОК в выращиваемых растениях или ПДК в воде и атмосферном воздухе. С учетом этого могут иметь место следующие концентрации в контактирующих с почвой средах; в одной из контактирующих с почвой сред, например в выращиваемых растениях (если лимитирующий показатель будет транслокационным), концентрация изучаемого ЭХВ будет на уровне ДОК, а в воде и атмосферном воздухе будет составлять только определенную часть ПДК.

Пример. Экспериментально установлено, что при концентрации фунгицида цинеба в почве равной 1,8 мг/кг, в тканях культурных растений накапливается это вещество на уровне ДОК, в атмосферный воздух цинеб поступает на уровне 0,05 ПДК для этой среды, в воду – 0,6 ПДК. Следовательно, исходной ориентировочной концентрацией цинеба в почве по токсикологическому показателю вредности является концентрация 1,8 мг/кг абсолютно сухой почвы.

Для проведения токсикологического эксперимента на животных найденную исходную или ориентировочную пороговую концентрацию в почве по токсикологическому показателю вредности (в мг/кг абсолютно сухой почвы) необходимо перевести в миллиграммы на 1 кг массы животного.

Пример. Пусть исходная или ориентировочная пороговая концентрация цинеба равна 1,8 мг/кг абсолютно сухой почвы и состоит из суммы ДОК, 0,05 ПДК для атмосферного воздуха и 0,6 ПДК для воды. Исходя из того, что человек потребляет за сутки 0,9 кг пищевых продуктов растительного происхождения и цинеб содержится в них на уровне ДОК (0,6 мг/кг), суточное поступление цинеба в организм человека этим путем составит

$$(0{,}6\ \text{мг/кг} \cdot 0{,}9\ \text{кг}) = 0{,}54\ \text{мг}.$$

Содержание цинеба в атмосферном воздухе равно 0,05 ПДК (ПДК цинеба составляет 0,004 мг/м^3), или

$$(0{,}004\ \text{мг/м}^3 \cdot 0{,}05) = 0{,}0002\ \text{мг/м}^3.$$

Так как суточный объем легочной вентиляции в покое составляет около 12 м^3, с воздухом в организм человека за сутки поступит

$$(0{,}0002\ \text{мг/м}^3 \cdot 12\ \text{м}^3) = 0{,}0024\ \text{мг цинеба}.$$

Одновременно с водой поступит 0,054 мг цинеба, так как его содержание в воде составляет 0,6 ПДК (ПДК = 0,03 мг/л), а суточная физиологическая норма водопотребления человека – в среднем 3 л

$$(0{,}03\ \text{мг/л} \cdot 0{,}6) \cdot 3\text{л} = 0{,}054\ \text{мг}.$$

Суммируя количество препарата, поступившего за сутки с водой, атмосферным воздухом, пищевыми продуктами, получим величину суточной нагрузки организма цинебом, равную (0,54 мг + 0,0024 мг + 0,054 мг) = = 0,596 мг на одного человека. Поскольку средняя масса человека составляет 60 кг, то исходная рабочая концентрация цинеба по токсикологическому показателю вредности почвы будет равна

(0,596 мг : 60 кг) = 0,01 мг/кг массы тела.

Эта концентрация и будет исходной, или ориентировочной пороговой концентрацией по токсикологическому показателю вредности почвы (в мг/кг массы экспериментальных животных).

Для установления окончательного значения пороговой концентрации по токсикологическому показателю вредности почвы необходимо испытывать в эксперименте действие вещества в концентрациях в 2, 3, 4, 5 раз и более высоких или низких по сравнению с ориентировочной пороговой концентрацией до тех пор, пока не будет установлен порог токсического действия (окончательная пороговая концентрация, найденная с учетом комплексного поступления вредного вещества по трем путям миграции).

14.5. АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДЫ УСТАНОВЛЕНИЯ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ ВРЕДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПОЧВЕ

Экспериментальная разработка нормативов содержания химических соединений в окружающей среде является трудоемкой, дорогостоящей и требует значительного времени на экспериментальные исследования. В ряде случаев, когда отсутствует возможность проведения длительных экспериментальных исследований, допустимо использовать расчетные методы**.** Установленные такими методами расчетные ПДК вредных веществ в почве называются *ориентировочно допустимыми концентрациями* (ОДК). ОДК определяют, рассчитывая их по установленным гигиеническим нормативам допустимых остаточных количеств (ДОК) пестицидов в овощах или плодовых культурах по имеющимся уравнениям регрессии, например:

$$ОДК_{(мг/кг)} = 1{,}23 + 0{,}48 \lg ДОК_{(мг/кг\ продукта\ питания)}.$$

Пример. ДОК пестицида поликарбоцида во фруктах, ягодах и овощах равно 1 мг/кг. Подставляем эту величину в приведенную выше формулу:

$$ОДК(поликарбоцида) = 1{,}23 + 0{,}48 \lg 1 = 1{,}23\ (мг/кг\ почвы).$$

В случаях, если для овощных и плодовых культур установлено несколько нормативов, то при расчете берут минимальное значение. Если у вещества были выявлены отдаленные эффекты его действия (эмбриотоксичность, гонадотоксичность, мутагенность, канцерогенность), необходимо вводить коэффициент запаса к расчетному нормативу. При установлении коэффициента запаса учитывают степень выраженности отдаленных эффектов и данные о фактическом загрязнении почв остаточными количествами препарата.

Для сокращения времени на экспериментальное обоснование ПДК вредного вещества в почве может применяться *групповой метод* нормирования**.** Суть ме-

тода сводится к тому, что для ускорения обоснования ПДК для веществ одной химической группы (класса), близких по структуре, физико-химическим и токсикологическим свойствам, на основе глубокого экспериментального изучения одного, наиболее типичного представителя данной группы, обосновывают ПДК для всех соединений. Например, для гербицидов группы симтриазинов в качестве ориентировочной ПДК для всех препаратов этой группы (семерона, атразина, пропазина, симазина) принята величина 0,5 мг/кг.

14.6. ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫЙ УРОВЕНЬ ВНЕСЕНИЯ (ПДУВ) И БЕЗОПАСНЫЕ ОСТАТОЧНЫЕ КОЛИЧЕСТВА (БОК) ВРЕДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПОЧВЕ КАК РЕГИОНАЛЬНЫЕ ПДК

Согласно современной концепции нормирования содержания вредных веществ в почве, принятой в России, в естественном (натурном) эксперименте при существующем многообразии возможных комбинаций почвенно-климатических факторов создать абсолютно одинаковые условия невозможно. Такие условия можно создать только в эксперименте, который лежит в основе установления ПДК вредных веществ в почве (Гончарук, Сидоренко, 1986). Следовательно, ПДК вредных веществ является условной для реальных типов почв (эталонной, реперной величиной), установленной в экстремальных, строго регламентированных почвенно-климатических лабораторных условиях. В то же время для конкретных почвенно–климатических условий должна быть установлена своя региональная величина ПДК, обеспечивающая безопасное содержание вредного вещества для здоровья людей. Поэтому возникла необходимость изыскания простой методики определения поправочных коэффициентов запаса, умножив на которые единую ПДК почвы, можно получить *региональные ПДК*, под которыми понимают предельно допустимый уровень внесения (ПДУВ) и безопасные остаточные количества (БОК) вредных веществ в почве.

Как свидетельствуют многочисленные наблюдения, в результате антропогенной и техногенной деятельности образуется весьма разнообразный ассортимент почвенных загрязнителей, что в условиях ограниченных возможностей по их эколого-гигиенической регламентации делает весьма актуальной проблему очередности их нормирования в почве. Как частное решение этой проблемы, связанной с внесением в почву пестицидов, М.С. Соколовым и Б.П. Стрекозовым была предложена методика, согласно которой для оценки приоритетности их регламентирования рекомендуется использование балльной шкалы, где все показатели действия пестицидов объединены в две группы – экотоксикологические и токсиколого-гигиенические.

В свою очередь по оценочным баллам все изученные пестициды объединены в три группы, соединения внутри которых расположены в порядке убывания оценочных баллов:

– первая группа – *особоопасные* – > 21 (гранозан, ГХЦГ, гептахлор, тиодан, цирам, метафос, севин, линдан, фосфид цинка, карбатион, ДНОК, ТМТД, ПХП, ПХК);

– вторая группа – *среднеопасные* – 20–14 (атразин, симазин, пентахлорфенолят Na, 2,4–Д, метилмеркаптофос, гардона, карбин, мороцид, трефан, нитрафен, тиазон, цидиал, ИФК, ДДВФ, карбофос, сайфос, хлорофос, купрозан, монуран, прометрин, фосфамид, фозалон, пирамин, тиллам, ТХА, трихлорметафос-3, фталофос);

– третья группа – *малоопасные* – < 13 (хлор-ИФК, эфирсульфонат, арезин, линурон, метилнитрофос, семерон, антио, кельтан, каратан, поликарбацин, далапон, диурон, купроцин, солан, дактал, ДХМ, дихлорэтан, тедион, фигон, цинеб, фталан).

При определении очередности регламентирования следует также учитывать площади земельных угодий, на которых применяются пестициды. В первой группе по обрабатываемым площадям лидером является ГХЦГ, затем в убывающем порядке идут гранозан, ПХП, метафос, ТМТД, ПХК, цирам, ДНОК, севин, тиодан, карбатион, фосфид цинка, линдан, гептахлор.

Помимо установления последовательности нормирования пестицидов методика М.С. Соколова и Б.П. Стрекозова вполне успешно может быть использована для установления приоритетности научно-исследовательских работ по регламентированию содержания в почве и других экзогенных химических веществ, что является крайне важным в условиях дефицита материально–технических средств, а также для прогнозирования опасности загрязнения территорий различными токсикантами.

Кроме указанной методики, для определения очередности регламентирования химических соединений, поступающих в почву, может быть использована классификация по степени их опасности (табл. 14.1).

Таблица 14.1

Классы эколого-гигиенической опасности химических веществ в почве

Показатель	Классы опасности		
	I (высокоопасные)	II (среднеопасные)	III (малоопасные)
Токсичность при пероральном введении	50–200	200–1000	>1000
($ЛД_{50}$ мг/кг массы животного)			
Стабильность в почве, мес.	>12	12–6	< 6
Миграция:			
в почву, см	60–41	40–21	20–0
в воздух	> пдк	= пдк	< пдк
в воду	> пдк	= пдк	< пдк
Переход в растения:			
наличие в растениях в течение месяцев	> 3	3–1	< 1
влияние на пищевую ценность	Влияет	Влияет	Не влияет
Влияние на санитарное состояние почвы	То же	То же	То же

Согласно этой классификации, в первую очередь должны быть регламентированы соединения, относящиеся к первому и второму классу эколого-гигиенической опасности, т.е. соли тяжелых металлов, микроэлементы, нефтепродукты, сернистые соединения, минеральные удобрения и другие вещества, систематически поступающие в почву.

После выбора приоритетного вещества начинается *сбор информации* о его характеристиках и свойствах, выясняется, в каких количествах изучаемое соединение встречается в природе, в каких производственных процессах и в ка-

ких количествах оно используется в сельском хозяйстве, каковы уровни загрязнения почвы, параметры токсичности вещества и механизм токсического действия, данные о регламентах в смежных средах, количественные и качественные методы обнаружения вещества и его метаболитов в почве, воздухе и растениях, а при необходимости – и в биологическом материале. За исходную концентрацию пестицидов, минеральных удобрений, микроудобрений, стимуляторов роста растений и других принимают количества, которые создаются в почве при рекомендуемых нормах расхода препаратов, принятых в сельскохозяйственной практике. При этом под нормой расхода понимается количество вещества (в кг/га), которое вносят в почву для достижения того экономического, агрохимического, почвоведенческого и других эффектов, на которые рассчитан этот препарат. Связь между нормой расхода и концентрацией вещества в почве выражается формулой:

$$P = C/d \cdot h, \qquad (14.5)$$

где P – норма расхода препарата, кг/га; C – концентрация вещества в почве, мг/кг; d – плотность почвы (от 1,2 до 1,8, в среднем 1,5 кг/дм^3); h – глубина пахотного слоя, дм (принимают равной 2 дм).

Если стойкость вносимых в почву веществ больше срока одного вегетационного периода, то целесообразно кроме концентраций, создающихся при максимальных нормах расхода, учитывать возможность суммарного накопления вещества в почве и испытывать концентрации, в 10 и более раз превышающие соответствующие нормы расхода вещества. Для веществ, поступающих в почву со сточными водами, промышленными выбросами и выхлопными газами автомобилей, за исходную концентрацию принимают уровень естественного содержания вещества в почве в кларках. Предыдущая и последующая концентрации испытываемых веществ десятикратно отличаются от исходной. В том случае, если она оказывается недействующей, следует использовать концентрации вещества, в 10 и более раз превышающие исходный порог по изучаемому показателю.

Рассмотрим конспективно методы расчета ПДУВ и БОК для конкретных климато-ландшафтных условий местности. Для расчета ПДУВ необходимо определить поправочный коэффициент $K_{\text{ПДУВ}}$. Исходя из того, что пестицид ДДТ обладает максимальной стабильностью среди органических вредных веществ, расчет ПДУВ проводят путем сравнения стабильности (T_{50}) ДДТ и изучаемого вредного вещества для конкретных региональных почвенных условий. Поправочный коэффициент ($K_{\text{ПДУВ}}$) показывает во сколько раз ПДУВ данного химического соединения превышает ПДУВ ДДТ для данных почвенно-климатических условий. Имея экспериментальные данные о T_{50} изучаемого вредного вещества и данные о T_{50} ДДТ для конкретного типа почвы, можно рассчитать величину поправочного коэффициента ПДУВ:

$$K_{\text{ПДУВ}} = \frac{T_{50\text{ДДТ}} \cdot 100 \cdot 2d}{T_{50\text{в.в.}} \cdot F_{\text{ДДТ}}}, \qquad (14.6)$$

где $T_{50ДДТ}$ – период полуисчезновения ДДТ в определенных климато–ландшафтных условиях в зависимости от типа почвы, сут; $T_{50в.в.}$– период полуисчезновения конкретного вредного вещества в данных региональных условиях (определяют экспериментально), сут; d – плотность почвы, кг/дм^3; $F_{ДДТ}$ – функция, описывающая стабильность ДДТ в различных климато-ландшафтных условиях (рассчитывается по формулам). Тогда ПДУВ изучаемого вредного вещества для конкретных почвенно-климатических условий определяют по формуле:

$$ПДУВ_{ЭХВ} = К_{ПДУВ} \cdot ПДК_{ЭХВ}. \qquad (14.7)$$

Пример. В экспериментальных исследованиях пестицида линурона была установлена ПДК, равная 1 мг/кг. Необходимо рассчитать ПДУВ линурона для 7 основных типов почв (тундровых, дерново-подзолистых, серых лесных, черноземных, каштановых, сероземных и красноземных). После проведения экспериментальных исследований по определению стабильности в указанных типах почв были определены величины T_{50} линурона и ДДТ для этих почв (графа 3 и 4 табл. 14.2). Используя полученные показатели T_{50}, по формуле (14.6) были рассчитаны $К_{ПДУВ}$ для семи типов почв (графа 5 табл. 14.2). Умножив $K_{ПДУВ}$ линурона для конкретного вида почвы на его ПДК, получаем ПДУВ линурона (графа 7 табл. 14.2). Таким образом, ПДУВ изучаемого пестицида для различных климато-ландшафтных зон колеблется от 10 до 18 кг/га.

Таблица 14.2

Значения поправочных коэффициентов *К* для расчета ПДУВ линурона

Основные типы почв	$F_{ДДТ}$	$T_{50ДДТ}$, сут	T_{50} линурона, сут	$K_{ПДУВ}$	ПДК линурона, мг/кг	ПДУВ линурона, кг/га
Тундровые	33,76	35,0	15	17,97	1	17,97
Дерново–подзолистые	42,11	38,4	17	13,94		13,94
Серые лесные	39,0	39,0	18	14,36		14,36
Черноземные	55,39	42,0	20	9,85		9,85
Каштановые	46,65	39,5	19	11,58		11,58
Сероземные	38,20	37,8	18	14,28		14,28
Красноземные	39,85	38,0	18	13,87		13,87

Величину БОК также рассчитывают на основе экспериментально установленной величины ПДК для конкретных почвенно-климатических условий и контрольный момент времени по формуле:

$$БОК = \frac{ПДК \cdot F(t_k)}{100}, \qquad (14.8)$$

где $F(t_k)$ – остаточное количество вредных химических веществ для конкретных почвенно-климатических условий в контрольный момент времени, %; t_k – контрольный момент времени, сут.

Контроль за БОК пестицидов в почве должен проводится в три временных периода. Наиболее важными с гигиенической точки зрения являются следующие сроки:

1. Время перед началом полевых работ (365 суток от начала полевых работ прошлого года).

2. Время выхода рабочих на поля (7–14-е сутки от момента внесения в почву ЭХВ).

3. Время перед повторным внесением пестицида в почву (30–45-е сутки от момента первоначального внесения).

Поэтому следует различать и определять *фоновые* безопасные количества ($БОК_ф$), безопасные количества перед *выходом* рабочих на поля после применения средств защиты растений ($БОК_в$) и безопасные количества вредного химического вещества в почве перед *повторным* внесением ($БОК_п$).

Пример. Значения БОК для пестицида ДДТ в условиях дерново–подзолистой почвы с использованием формулы (14.8) для разных контрольных моментов времени будут равны:

до применения пестицида (БОК фоновое):

$$БОК_ф = \frac{ПДК_{ДДТ} \cdot F(635\ сут)}{100} = \frac{0{,}1 \cdot 42 \cdot 11}{100} = 0{,}04\ мг/кг.$$

В момент выхода рабочих на поля (БОК выхода):

$$БОК_в = \frac{ПДК_{ДДТ} \cdot F(14\ сут)}{100} = \frac{0{,}1 \cdot 86 \cdot 23}{100} = 0{,}09\ мг/кг.$$

При повторном применении (БОК повторное):

$$БОК_п = \frac{ПДК_{ДДТ} \cdot F(45\ сут)}{100} = \frac{0{,}1 \cdot 82 \cdot 14}{100} = 0{,}08\ мг/кг.$$

По аналогии с методикой расчета ПДУВ величину БОК, приуроченную к разным контрольным моментам времени, для органических вредных веществ рассчитывают на основе экспериментально установленной ПДК химического вещества в почве, аналитической зависимости ДДТ от почвенно-климатических факторов и поправочного коэффициента $K_{БОК}$ по формуле:

$$БОК_{(ф,в,п)} = ПДК \cdot K_{(ф,в,п)}, \qquad (14.9)$$

где $БОК_{(ф,в,п)}$ – БОК, соответственно, фоновое выхода и повторное; $К_{(ф,в,п)}$, – соответствующие поправочные коэффициенты; ПДК – предельно допустимая концентрация вредного вещества. В свою очередь, поправочные коэффициенты определяют по формуле (14.6) для разных контрольных моментов времени:

$$K_{(ф,в,п)} = (T_{50ДДТ} \cdot F_{ДДТ(365;14;45\ сут.)})/(T_{50в.в.} \cdot 100), \qquad (14.10)$$

где $K_ф$, $K_в$, $K_п$ – поправочные коэффициенты для расчета $БОК_ф$, $БОК_в$ и $БОК_п$, соответственно; $T_{50ДДТ}$ – период полураспада ДДТ в конкретных почвенно-климатических условиях, сут., $T_{50в.в.}$ – период полураспада изучаемого

вредного вещества в конкретных почвенно-климатических условиях; $F_{ДДТ(365;14;45\ сут)}$ – аналитическая функция стабильности ДДТ в конкретных почвенно-климатических условиях для разных контрольных моментов времени.

Пример. Рассмотрим расчет БОК на примере пестицида линурона. Исходные данные для дерново-подзолистых почв:

ПДК линурона – 1мг/кг;

– $T_{50ДДТ}$ – 38,4 сут.

– $F_{ДДТ}$ для разных контрольных моментов времени:

365 сут. (перед внесением) – 5,71;

14 сут. (после внесения) – 41,81;

45 сут (после повторного применения) – 37,71.

$T_{50в.в}$ – 17 сут.

Рассчитываем поправочные коэффициенты $К_{(ф,в,п,)}$.

$$K_ф = (38{,}4 \cdot 5{,}71)/(17 \cdot 100) = 0{,}13,$$

$$K_в = (38{,}4 \cdot 41{,}81)/(17 \cdot 100) = 0{,}94,$$

$$K_п = (38{,}4 \cdot 37{,}71)/(17 \cdot 100) = 0{,}85.$$

С учетом полученных значений поправочных коэффициентов величины

$$БОК_ф = \frac{ПДК_{ДДТ} \cdot F(365\ сут)}{100} = \frac{0{,}1\ мг/кг \cdot 2{,}11\%}{100} = 0{,}04;$$

$$БОК_в = \frac{ПДК_{ДДТ} \cdot F(14\ сут)}{100} = \frac{0{,}1\ мг/кг \cdot 86{,}23\%}{100} = 0{,}09;$$

$$БОК_п = \frac{ПДК_{ДДТ} \cdot F(45\ сут)}{100} = \frac{0{,}1\ мг/кг \cdot 82{,}14\%}{100} = 0{,}08.$$

$БОК_{(ф,в,п)}$, полученные по формуле $БОК_{(ф,в,п)} = ПДК \cdot K_{(ф,в,п)}$, соотвественно составят $БОК_ф = 0{,}13$ мг/кг; $БОК_в = 0{,}94$ мг/кг и $БОК_п = 0{,}85$ мг/кг.

Величина $БОК_ф$ (0,13 мг/кг) свидетельствует, что при содержании линурона в почве на уровне 0,13 мг/кг возможно применение препарата в дозах, не превышающих ПДУВ линурона для дерново-подзолистых почв, составляющего 13,9 мг/га (табл. 14.2), или 4,6 мг/кг[36]. При превышении $БОК_ф$ препарат можно применять с учетом фонового содержания ($C_{ф1}$) линурона в почве (доза внесения равна ПДУВ – $2dC_{ф1}$, где $C_{ф1}$ – фоновое содержание химического вещества в момент действия). Величина $БОК_в$ указывает на то, что выход рабочих на поля возможен и безопасен, если за 14 дней с момента первого внесения содержание линурона в почве снизится с 4,6 мг/кг до 0,94 мг/кг. Повторное применение препарата через 45 сут. после внесения в максимально

[36] Для перевода ПДУВ (кг/га) в ПДУВ(мг/кг) можно воспользоваться формулой ПДУВ мг/кг = ПДУВ кг/га/2d, где d – плотность абсолютно сухой почвы (кг/дм^3), которая может принимать значения 1,2÷2,0 кг/дм^3.

допустимых дозах возможно лишь при соответствии содержания линурона в почве величине $БОК_п$ равной 0,85 мг/кг. При превышении $БОК_п$ дозу повторного внесения ($Д_п$) определяют по формуле:

$$Д_п = ПДУВ - 2dC_{ф2,} \qquad (14.11)$$

где $C_{ф2}$ – фоновое содержание химического в почве на 45-е сутки.

При определении $ПДУВ_м$ для тяжелых металлов и их солей для расчета поправочного коэффициента применяют подвижность ионов в экстремальных (МПЭ) и региональных условиях (почва)

$$ПДУВ_м = ПДК_м \cdot K_{пдув}, \qquad (14.12)$$

где $ПДК_м$ предельно допустимая концентрация для металла или соли, установленная в экстремальных условиях эксперимента, кг/кг; $K_{пдув}$ – поправочный коэффициент для металлов.

Величину $K_{пдув}$ определяют по формуле:

$$K_{пдув} = (C_{п.}МПЭ \cdot 2d) / C_{п.почвы}, \qquad (14.13)$$

где $C_{п.МПЭ}$ – содержание подвижных форм изучаемого металла в МПЭ, %; $C_{п.почвы}$ – содержание подвижных форм изучаемого металла в конкретных почвенно-климатических условиях, %; d – плотность абсолютно сухой почвы (кг/дм^3). Вследствие высокой стабильности для металлов и их солей понятие БОК совпадает с понятием ПДУВ. Поэтому для металлов определяют не три, а одну БОК, которую вычисляют по формуле:

$$БОК = ПДУВ / 2d = ПДК_м \cdot (C_{п.МПЭ} / C_{п.почвы}). \qquad (14.14)$$

Эколого-гигиеническое значение рассматриваемых нормативов заключается в том, что для предупредительного санитарного надзора ведущей величиной является ПДУВ, для текущего – БОК.

Таким образом, не следует опасаться применения химических веществ в количестве превышающем ПДК, если такое применение оправдано с точки зрения защиты растений (пестициды), поскольку ПДК устанавливаются в экстремальных условиях с определением коэффициента запаса, который в значительной мере учитывается при расчете ПДУВ. Именно поэтому, как правило, выше ПДК в несколько раз. Следовательно, при применении химических веществ дозы внесения должны сравниваться не с ПДК, а с ПДУВ химических веществ для региональных условий. При текущем контроле, определяя безопасное содержание вредных веществ в почве, следует сравнивать их концентрацию не с ПДК, а с БОК для данного почвенно-климатического региона и контрольного момента времени.

Глава 15

ПРИНЦИПЫ ОБОСНОВАНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ПРОМЫШЛЕННЫХ ХИМИЧЕСКИХ АЛЛЕРГЕНОВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ И АТМОСФЕРЫ

Иммунная система, обеспечивающая жизнеспособность живого организма, чрезвычайно чувствительна к действию многочисленных факторов окружающей среды и выполняет защитную функцию в организме.

Среди экологических факторов внешней среды, оказывающих негативное влияние на организм животных и человека, чаще всего выделяют химические, физические и биологические. К последним относятся различного рода патогенные микроорганизмы, включая вирусы и продукты их жизнедеятельности, используемые в ряде отраслей народного хозяйства: антибиотики, ферменты, кормовые белки, биологические средства защиты растений и др. Иногда воздействующие факторы рассматриваются как комплексные: природно-климатические, социально-бытовые, профессионально-производственные и др.

В настоящей главе изложены основные методы оценки аллергенного действия химических веществ, принципы организации иммунотоксикологического мониторинга и обоснования предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы.

15.1. ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЗАЩИТА ОРГАНИЗМА ОТ КСЕНОБИОТИКОВ

Изменение иммунологической реактивности является одним из ранних и чувствительных критериев при оценке влияния ксенобиотиков на организм, а нарушение функции иммунокомпетентных клеток может быть причиной развития инфекционных, аллергических, аутоиммунных, онкологических и других заболеваний. Поэтому выявление и устранение иммуноповреждающих эффектов ксенобиотических факторов окружающей среды является важным аспектом проблемы охраны и оздоровления экологической обстановки.

По происхождению, структурной организации и особенностям функционирования иммунитет можно разделить на конституционный, фагоцитарный и лимфоидный. У растений, бактерий, вирусов, грибов и простейших состояние иммунности обеспечивается одними конституционными факторами. У беспозвоночных имеется уже два механизма: конституционный и фагоцитарный. Позвоночные обладают всеми тремя иммуногенными системами.

Конституционный иммунитет обеспечивается без участия лимфоидной системы и антител. Это первый уровень защиты по своему происхождению и биологическому значению. Он существует до контакта с тем или иным антигеном и называется врожденным, или естественным. Характеризуется надежностью и устойчивостью к тем или иным заболеваниям. Защищает против микробов, имеет сходные черты как у животных, так и у растений, передается по наследству. Конституционный иммунитет определяется несоответствием молекулярного строения клеточных мембран антиген–патогенным факторам окружающей среды (энзимам, токсинам), что приводит к невозможности их адсорбции и/или проникновению через защитную мембрану организма.

Фагоцитоз одноклеточных и многоклеточных беспозвоночных – более высокий уровень защиты. Фагоцитирующие клетки беспозвоночных считаются предшественниками макрофагов беспозвоночных, а зернистые клетки беспозвоночных – предшественниками гранулоцитов и рассматриваются как составная часть иммунологических реакций лимфоидной системы позвоночных животных и человека.

Лимфоидная (иммунная) система имеется только у высокоразвитых позвоночных животных, в том числе и человека. Она имеет ряд особенностей: обладает высокой специфичностью реагирования, начинает функционировать только после поступления достаточного количества антигена (АГ – чужеродного макромолекулярного агента) в организм, генерализована по всему телу, ее клетки постоянно рециркулируют с током крови по организму; она осуществляет биосинтез специфических антител (АТ) – иммуноглобулинов, устраняющих чужеродные антигены.

К органам иммунной системы относят: костный мозг, тимус, селезенку, аппендикс, лимфатические узлы, скопления лимфоидной ткани, расположенные в стенках полых органов пищеварительной, дыхательной систем и мочеполового аппарата (миндалины, лимфоидные бляшки тонкой кишки, одиночные лимфоидные узелки), а также диффузно рассеянную в слизистой оболочке внутренних органов лимфоидную ткань и многочисленные лимфоциты, находящиеся в крови, лимфе, тканях и органах, где они выполняют функции поиска, обнаружения и уничтожения антигенов. Костный мозг и тимус, в которых из стволовых клеток дифференцируются лимфоциты, относятся к центральным органам иммунной системы, остальные являются периферическими органами иммуногенеза – в эти органы лимфоциты выселяются из центральных органов.

Иммунитет обеспечивается в основном клетками макрофагально–лимфоцитарного ряда, осуществляющего захват, переработку АГ и продукцию АТ, связывающих АГ в крови и тканях и способствующих его нейтрализации.

АГ представляют собой единый макромолекулярный субстрат (макромолекула, клетка и др.), на который при его парентеральном введении в организм индуцируется иммунная реакция. Низкомолекулярные детерминанты чужеродных молекул распознаются антителами и иммунокомпетентными клетками. Поэтому иммунизация каким-либо АГ вызывает, как правило, про-

дукцию АТ, соответствующих различным антигенным детерминантам. Активный центр АТ, способный связывать какую-либо химическую структуру, невелик, соответствует лишь низкомолекулярному соединению и не может охватывать всю молекулу белка или другого АГ-полимера. Активный центр антитела имеет объем примерно 34 × 12 × 7Å.

Лимфоциты и АТ – специализированные факторы иммунитета, развившиеся на поздних этапах эволюции животного мира. Лимфоциты у млекопитающих представлены двумя существенно отличающимися популяциями, хотя и происходящими из одной общей стволовой клетки, но проходящими стадию дифференцировки либо в тимусе (Т-лимфоциты), либо в других клеточных структурах: пейеровых бляшках, сумке Фабрициуса у птиц – (В-лимфоциты). Т- и В-лимфоциты обеспечивают иммунологические реакции различными механизмами. В-лимфоциты – это продуценты АТ (иммуноглобулинов), которые, циркулируя по организму, специфически связывают соответствующие АГ-детерминанты. В-лимфоциты служат предшественниками антителообразующих клеток (АОК) и разделяются на две субпопуляции, различающиеся по характеру мембранных АГ по иммуногенам, на которые они отвечают, и по природе регуляторных процессов, контролирующих их ответ.

Т-лимфоциты не продуцируют АТ. Однако имеющиеся на их поверхности рецепторы, обеспечивают взаимодействие с попавшими извне в организм или образовавшимися в нем самом чужеродными макромолекулами и клетками. Контактируя с последними, Т-лимфоциты способны вызывать их лизис. Т-лимфоциты подразделяются на ряд подклассов. Часть из них опосредует важные регуляторные функции, в частности, может помогать (Т-хелперы) или подавлять развитие иммунного ответа, в том числе образование АТ. Другие Т-лимфоциты выполняют эффекторные функции: вырабатывают растворимые вещества, запускающие разнообразные воспалительные реакции, или осуществляют прямое разрушение клеток, несущих на себе АГ (Т-киллеры).

Т- или В-клетки, мало отличаясь морфологически, различаются функционально: набором поверхностных рецепторов и АГ, чувствительностью к митогенам и другими свойствами. Так, Т-клетки по сравнению с В-клетками более крупные и плотные, несут большой отрицательный заряд; имеют более высокую активность лизосомальных ферментов: менее чувствительны к кортикостероидам. Стимулятором Т-клеток являются фитогемагглютинин и конковалин А (лектин, выделенный из *Canavalia ensiformes*). В свою очередь, В-клетки активируются (стимулируются) продуктами жизнедеятельности микробов, липополисахаридами грамотрицательных бактерий.

Каждый Т- и В-лимфоцит имеет рецепторы к определенной АГ-детерминанте. Поскольку лимфоидная система у человека содержит примерно 2×10^{12} лимфоцитов, то набор АГ, с которыми могут реагировать лимфоциты каждого индивидуума, достаточно велик. Подсчитано, что В-лимфоидная система состоит из 10^7 клонов В-лимфоцитов, где каждый клон представлен 10^5 клетками с идентичными АГ-рецепторами.

Т-лимфоциты в ходе иммунного ответа выделяют лимфокины, которые неспецифически привлекают к участию в реакции другие лимфоциты, моноциты, гранулоциты. В результате развивается клеточная реакция, включающая изменение в клетках тканей, принимающих участие в иммунологических про-

цессах. Активация В-лимфоцитов приводит к биосинтезу иммуноглобулинов разных классов (JgA, JgM, JgD, JgE, JgG), составляющих основу гуморального иммунитета.

Все элементы иммунной системы находятся между собой в сложных, но упорядоченных регуляторных отношениях.

Сопротивляемость организма инфекции, микробам зависит не только от способности организма развивать клеточный и гуморальный иммунные ответы, но обусловлена и функциональным состоянием организма: проницаемостью нормальных кожных и слизистых покровов; наличием бактериальных субстанций в кожных секретах; кислотностью содержимого желудка; наличием в крови и других жидкостях организма ферментных систем (лизоцим, пропердин и др.); количеством и активностью фагоцитов крови и тканей.

Все эти механизмы относятся к неспецифическим факторам естественной резистенности (рис. 15.1). Несколько особое положение занимают фагоциты и система комплемента. Особенность их положения в системе иммунитета состоит в том, что, несмотря на неспецифичность самого фагоцитарного акта, фагоциты (главным образом макрофаги) принимают участие в иммунном ответе.

Фагоциты, выполняют следующие функции, обладают регуляторной активностью, удаляют АГ, распределяют АГ в организме, обрабатывают и представляют АГ в высокоиммунной форме лимфоцитам, выделяют факторы, стимулирующие или подавляющие дифференцировку лимфоцитов–монокинов (интерлейкин-1, интерферон, лизосомальные ферменты), осуществляют кооперацию Т- и В-лимфоцитов в иммунном ответе. Комплемент представляет собой комплекс регуляторных гетерогенных белков (более 20) и протеолитических ферментов, принимающих участие в некоторых специфических иммунологических реакциях и обладающих способностью лизировать клетки.

Негативное воздействие любых факторов внешней среды сопровождается глубокими сдвигами в функциях иммунной системы живого организма и, в первую очередь, изменениями в процессах миграции иммунокомпетентных клеток и их предшественников (кровь – ткань – лимфатические органы – костный мозг).

Помимо эффектов изменения иммунологической реактивности при длительном действии экстремальных факторов среды с угрозой ее полома или дефицита регуляции правомерно выделить две группы первоначальных признаков нарушения иммунной системы. Первая касается дестабилизации приспособительных функций в иммунной системе и функциональном составе количества Т- и В-клеточных систем, лимфоэндокринных взаимодействиях организма.

Рис. 15.1. Общая организация иммунологической защиты организма

Вторая группа признаков характеризуется более глубокой степенью расстройств, включая появление аутоантител клеточного и гуморального типа. Поэтому в качестве объекта исследования для изучения состояния иммунитета необходимо использовать лимфоидные органы и ткани, а также биологические жидкости (сыворотку крови, лимфу, секреты желез слизистых оболочек организма).

Иммуноморфологический анализ центральных и периферических органов иммунной системы является одним из основных этапов изучения межклеточных взаимоотношений в иммунных структурах при оценке реакций организма на воздействующие факторы окружающей среды.

В задачу морфологических исследований в рамках иммунотоксикологического мониторинга входит оценка структурной организации центральных (тимус, костный мозг) и периферических органов иммунитета, морфометрические и иммуногистологические исследования. Изменения в структуре лимфоидных органов под действием экотоксикантов изучают на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином и проводят обзорный морфологический анализ гистологических препаратов.

Использование оптимального числа объективных и достаточно информативных методов оценки состояния Т- и В-звеньев иммунной системы, активности макрофагов и иммунокомпетентных органов позволяет оценить состояние иммунного статуса организма в условиях большого потока химических и стрессовых факторов окружающей среды.

15.2. АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ. КЛАССИФИКАЦИЯ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

В условиях неблагоприятного воздействия факторов окружающей среды представляет особый интерес оценка их аллергенных свойств. Под аллергенными свойствами понимают способность химических веществ (экотоксикантов) вызывать состояние повышенной чувствительности (гиперчувствительности, сенсибилизации), в основе которой лежат иммунологические механизмы. Выявление аллергенной активности экотоксикантов является важным этапом и составной частью иммуноэкологических исследований. Оно необходимо, в первую очередь, для установления опасности контакта кожных и слизистых покровов с различными загрязнителями окружающей среды, и, во-вторых, для обоснования ПДК химических веществ в окружающей среде рабочих и жилых помещений.

Под аллергией понимают патологически повышенную реакцию организма на антигены, которые у других индивидуумов не вызывают каких–либо болезненных явлений. В основе состояния повышенной чувствительности организма лежат иммунологические механизмы, которые, согласно общепринятой классификации, делят на 4 типа реакций: анафилактические, цитотоксические, связанные с образованием иммунных комплексов и опосредованные клетками.

Реакции 1-го типа – это реакции между фиксированным на клетке антителом JgE и специфическим антигеном с последующим освобождением медиаторов из клеток-«мишеней» – базофилов и тучных клеток. К основным чертам анафилаксии как состояния гиперчувствительности относятся: специфичность, немедленность и обусловленность реакции антителами.

Реакции 2-го типа – цитотоксические, или цитолитические (гуморальные иммунные реакции). Они опосредованы антителами JgM или JgG к поверхностным антигенам клетки.

Реакции 3-го типа – образование иммунных комплексов при взаимодействии антител с антигенами. В зависимости от количества и иммуно-генности антигена может происходить отложение образовавшихся иммунных комплексов в тканях, стенке мелких кровеносных сосудов. Для развития этого типа аллергических реакций необходим избыток антигена и высокая концентрация антител.

Реакции 4-го типа – между сенсибилизированными лимфоцитами и специфическими антигенами. Характерные черты этой реакции: высокая специфичность, появление не ранее 6–8 часов и невозможность пассивного переноса антителами.

Широкое распространение химических и биологических аллергенов в окружающей среде и связанный с этим рост числа аллергических заболеваний среди населения придает современным аллергологическим исследованиям новое гигиеническое направление. Аллергию называют болезнью цивилизации. Тяжесть и длительность течения аллергических заболеваний, риск получения смертельных исходов (при анафилактическим шоке и других состояниях), значительный социальный ущерб от аллергозаболеваемости ставит проблему профилактики аллергии в разряд наиболее актуальных в современной экологии человека.

Аллергенами являются вещества антигенной или неантигенной природы, способные вызывать состояние аллергии. Ими могут стать как простые вещества в виде отдельных химических элементов, так и сложные белковые или белково-полисахаридные комплексы.

Рассматривая влияние экологических условий на аллергозаболеваемость населения, возможно условно подразделить загрязнители окружающей среды на факторы природного и антропогенного происхождения, способные выступать в роли аллергенов. Такая классификация факторов окружающей среды представляет определенную ценность для гигиенических исследований, для установления, например, связи неблагоприятных аллергенных эффектов, этиологической значимости фактора среды и источников его поступления в окружающую среду. Отметим, что деление аллергенов на две большие группы условно, поскольку любой антропогенный фактор может быть продуктом переработки природного сырья. При этом часто переработанный продукт обладает новыми качествами, в том числе и антигенными характеристиками. Например, металл хром является сильным аллергеном в виде соли.

15.2.1. ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ АЛЛЕРГООПАСНОСТЬ РЕГИОНА

1. Природные факторы:
   а) неинфекционного происхождения:
      – бытовые;
      – эпидермальные;
      – пыльцевые;
   б) пищевые (животного и растительного происхождения);
   в) инфекционного происхождения:
      – бактериальные;
      – грибковые;
      – вирусные;
   г) физические факторы (инсоляции и др.).
2. Антропогенные факторы:
   а) промышленные аллергены;
   б) лекарственные препараты;
   в) прочие загрязнители окружающей среды.

Наиболее часто выявляется полиэтиологический характер заболевания, поскольку аллергизация организма человека происходит в результате воздействия нескольких факторов среды. Развивающаяся гиперчувствительность к одному ведущему фактору в течение нескольких месяцев перерастает в полиаллергическое состояние у человека, т.е. возникает непереносимость двух, трех и более факторов окружающей среды. Большое значение в формировании проявлений полиаллергии имеет реактивность организма человека, иммуногенетическая предрасположенность к развитию аллергического заболевания и, безусловно, качество окружающей человека среды. Сочетание аллергизирующих факторов может быть самым разнообразным; пыльца и микроорганизмы, гриб и клещи, пищевые продукты и лекарства, наконец, при контакте на производстве – химические промышленные аллергены и сходные с ними по составу вещества бытовой химии.

Система обследования населения с целью выявления аллергических заболеваний и групп риска развития патологий включает 2 этапа исследования: во-первых, анализ аллергоопасности факторов окружающей среды в регионе, где проводится обследование популяции; а во-вторых, аллергологическое обследование населения. Первый этап проводится с учетом санитарно-гигиенической характеристики региона, анализа аллергенных факторов жилой среды, бытовых аллергенов. Оценивается аллергоопасность наиболее значимых загрязнителей среды и их возможных метаболитов. Второй этап включает в себя анализ данных медицинских карт поликлиник и аллергологических анкет опроса населения.

Аллергологическая анкета позволяет выявить данные анамнеза, наследственную предрасположенность к развитию болезни, провести предварительную оценку возможности влияния того или иного фактора среды на возникновение заболевания, сформировать группу риска развития аллергии. Для выявления лиц, страдающих аллергией, при массовых обследованиях населения обычно используют:

1. Метод типологической выборки репрезентативных популяций в различных климато-географических регионах.

2. Опрос населения по специально разработанным клиницистами анкетам.

3. Изучение клинической характеристики на основании сбора аллергологического анамнеза; клинического и специфического аллергологического обследования.

При выявлении явных симптомов аллергического заболевания осуществляют клинико-лабораторное обследование больных и лиц, входящих в группу риска развития аллергии, – определение уровней специфического и общего IgE. Иммуноглобулин Е является гликопротеином с константой седиментации 8S и молекулярной массой 190 тыс., содержит около 12% углеводов. Он имеет основные свойства, общие со всеми сывороточными иммуноглобулинами. Его молекула состоит из двух легких и двух тяжелых полипептидных цепей, соединенных дисфульфидными связями. Биологические свойства связаны с тяжелыми цепями Fc фрагмента молекулы IgE, которые обеспечивают феномен сенсибилизации. В невысоких концентрациях IgE имеется у всех здоровых людей. Он синтезируется плазматическими клетками, находящимися как в регионарных лимфоузлах, так и в слизистой оболочке носа, бронхов, желудка, перитонеальных лимфатических узлах. Определение общего уровня IgE возможно только радиоиммунологическим или иммуноферментным способом и очень важно для оценки иммунного статуса при аллергических заболеваниях, паразитарных инвазиях, иммунодефицитах. В норме он содержится в крови в концентрации 0,0001 г/л.

Соответственно двум формам иммунного ответа (гуморального и клеточного) имеют место и два механизма повышенной чувствительности организма – гиперчувствительность немедленного (ТНТ) и замедленного (ГЗТ) типа. Такое деление вызвано разницей во времени возникновения аллергических реакций. ГНТ, преимущественно гуморального типа, развивается быстро, в течение 10–20 мин, и вызывается антителами. ГЗТ, преимущественно клеточного типа, вызывается лимфоцитами и проявляется через 24–48 ч. после попадания антигена в организм.

Механизм, по которому может развиться аллергическая реакция, зависит от многих факторов: природы антигена, его дозы, пути введения, кратности и продолжительности поступления в организм, наличия адъювантов, подбора экспериментального животного, физико-химической структуры антигена, его способности соединяться с белками организма и т.п.

15.2.2. ОБЩИЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ АЛЛЕРГЕННЫХ СВОЙСТВ КСЕНОБИОТИКОВ

Сущность обнаруживаемых изменений в иммунной системе организма при воздействии различных по своей природе факторов окружающей среды предусматривает выявление иммунологического полиморфизма, иммуномодулярной гетерогенности, определение частоты и распределения иммунологических изменений живого организма. Образующиеся в организме в ответ

на введение ксенобиотиков антитела, могут обладать как защитным, так и повреждающим действием. Это положено в основу методов дифференцировки нормальной иммунной реакции от аллергической, главной отличительной особенностью которой является повреждение (Фрадкин, 1990). Изменение функционирования иммунной системы позволяет установить уровень резистентности организма к воздействию эколого-производственных факторов и своевременно выявить угрожающие развитием иммунопатологических состояний факторы риска физической, химической и биологической природы.

Оценка сенсибилизирующего действия ксенобиотиков и выбор методики проводится после определения их токсических свойств. Предварительно анализируются литературные данные о наличии способности данного химического вещества, аллергена и пр. вызывать состояние сенсибилизации либо ее отсутствии, а также сведения о физико-химических свойствах вещества, минимально действующих дозах по другим биологическим критериям (летальности, токсичности), способах экспозиции и схемам введения в организм. Рекомендуется иметь данные о метаболизме химического вещества в организме.

В иммунотоксикологической практике широко опробированы приемы выявления сенсибилизации к химическим соединениям и продуктам. Это кожные провокационные пробы и лабораторные специфические аллерготесты, основанные на реакции клеток крови на аллерген *in vitro*. Тесты позволяют выявить аллергические реакции разного типа: замедленные (провокационная капельная кожная проба), немедленные реагинового типа (тесты с тучными клетками), а также опосредованные иммунными комплексами (лизис лейкоцитов и тесты с нейтрофилами крови). Рекомендуемые тесты могут быть расширены за счет методов специфической аллергодиагностики, а также неспецифических подходов, свидетельствующих о развитии сенсибилизации у подопытных животных (иммунологических, биохимических, иммуноморфологических и др.).

Контроль. Изучение сенсибилизирующих свойств химических соединений проводят в сравнении с контрольной (разводящей) жидкостью. Наиболее часто используют дистиллированную воду и физиологический раствор. При работе с водонерастворимыми веществами возможно использование других растворителей (например, растительное масло). В этом случае обязательна проверка их сенсибилизирующих свойств.

Исследуемые дозы. При исследовании сенсибилизирующих свойств химических веществ наиболее оптимальным является испытание трех уровней доз: 0,1 ПДК, ПДК и 10 ПДК. В случае отсутствия сведений о ПДК данного вещества ориентиром служит $ЛД_{50}$. Используют 1/10, 1/100, 1/1000 от $ЛД_{50}$ при соответствующем способе введения.

Порядок проведения эксперимента. Вначале проводят изучение раздражающего действия химического вещества. Затем эпикутанную сенсибилизацию и конъюнктивальную пробу. После этого приступают к более детальному исследованию аллергизирующего действия ксенобиотика.

Выявление сенсибилизирующего действия ксенобиотиков методами *in vitro* проводят только с водорастворимыми химическими соединениями. Из лабораторных иммунологических методов оценки сенсибилизации рекомендуются на выбор: для выявления реакции клеток крови на аллерген *in vitro* − реакции специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ) и специфической агломерации лейкоцитов (РСАЛ), а для определения гуморальных антител − реакция специфической микропреципитации (РСМП).

Из приемов аллергодиагностики *in vivo* технически наиболее простыми являются кожные тесты и конъюнктивальная проба.

15.3. АЛГОРИТМ ОБОСНОВАНИЯ ПДК ПРОМЫШЛЕННЫХ ХИМИЧЕСКИХ АЛЛЕРГЕНОВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ И АТМОСФЕРЫ[37]

Многолетняя практика обоснования гигиенических нормативов (ПДК и ОБУВ) промышленных аллергенов в воздушной среде подтвердила их при профилактике развития аллергических заболеваний у рабочих аллергоопасных производств и населения промышленных регионов. В действующей НТД предусмотрен единый подход к обоснованию гигиенических нормативов промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы. Оценка аллергоопасности при установлении гигиенических нормативов химических соединений и сложных продуктов на их основе обязательно проводится в следующих случаях:

– при нормировании новых химических соединений, принадлежащих к химическим классам, не изученным в аллергологическом плане;

– при нормировании химических соединений и сложных продуктов, принадлежащих к химическим классам, содержащим уже известные аллергены, или имеющих химические аналоги, обладающие сенсибилизирующим действием;

– при наличии жалоб аллергического характера или клинических признаков аллергических поражений у людей, имеющих контакт с данным химическим соединением или продуктом.

[37] Раздел написан на основе МУ 1.1.578-96 «Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы».

15.3.1. ОБЩИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПОСТАНОВКЕ ЭКСПЕРИМЕНТА

Отбор исследуемых химических веществ для тестирования с учетом их иммуноповреждающего эффекта следует осуществлять на основе принципа приоритетности, с учетом масштабов их использования, распространенности в среде обитания и параметров воздействия. Прежде всего следует ознакомиться с данными литературы по иммунотоксическому действию определенного вещества, с клинико–эпидемиологическими наблюдениями за лицами, контактирующими с определенными химическими загрязнителями и обнаруживающими при этом повышенный уровень аллергических поражений, а также с анализом химического строения ксенобиотика, при котором оценивается его способность взаимодействовать с молекулярными структурами клеточных элементов иммунной системы. Например, принадлежность данного соединения к классу химических веществ и сложных продуктов, среди которых выявлены антигены (аллергены). Это группы ароматических нитросоединений, изоцианатов, фурансодержащих соединений, эпоксидов, альдегидов. Соединения и материалы, содержащие хром, никель, кобальт, марганец, бериллий, платину, полимерные материалы на основе формальдегида, эпоксиды, капролактам, микробные препараты, кормовые дрожжи, антибиотики и др. Либо наличие в структуре исследуемого соединения или сложного продукта реактогенных группировок, характерных для химических аллергенов (амино–, эпокси–, динитрофенильных групп, гетероциклов-, металлов-аллергенов и т.п.), свидетельствует о возможном (потенциальном) иммуноповреждающем действии этих соединений.

Косвенным признаком иммунотоксических нарушений может быть и изменение динамики массы тела, одним из чувствительных показателей действия на организм каких-либо неблагоприятных факторов. Чаще у подопытных животных прибавка веса отстает от аналогичного показателя у контрольных животных. Если нарушаются обменные процессы, животные, наоборот, начинают усиленно набирать вес. Наступает выраженное ожирение, которое также является показателем вредного действия испытуемого фактора. Вес животных должен соответствовать их возрасту.

Такие общефизиологические показатели, как изменение температуры тела, частоты дыхания и пульса, отражают действие ксенобиотиков на организм животных, поэтому их широко используют в санитарно-токсикологическом эксперименте при выявлении потенциальных иммунотоксикантов в объектах окружающей среды.

Исследователям также всегда следует обращать внимание на изменение периферического состава крови (количества гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, ретикулоцитов, лейкоцитарной формулы). Для большинства химических и физических факторов окружающей среды эти изменения являются специфическими показателями, а для других – интегральными, выявляя общее состояние организма животных и человека, изменение иммунного статуса и общей сопротивляемости. Приводим величины массы тела (табл. 15.1) показателей нормы периферической крови лабораторных животных (табл. 15.2) и человека (табл. 15.3).

Таблица 15.1

Средняя масса лабораторных животных в зависимости от возраста и пола (Ковалевский, 1958)

Возраст, недели	Мыши, г		Крысы, г		Морские свинки, г		Кролики, г	
	самцы	самки	самцы	самки	самки	самки	самцы	самки
При рождении	1,5	5,3	73	74	5,0	1,4	50	54,6
2	5,8	17.2	11	108	16.1	5,5	309–342	360–387
5	12,9	50.5	246	248	47,2	11,9	450	450
9–10	21,0	90,4	464	420	79,9	18,9	2300	2000
20–26	26,3	257,9	–	–	199,4	25,0	3150–3500	2100–2900

Таблица 15.2

Морфологические показатели периферической крови лабораторных животных (Трахтенберг и др., 1991)

Вид животного	Гемоглобин, г%	Эритроциты, млн/мкл	СОЭ, мм/ч	Лейкоциты, тыс/мкл	Эозинофилы,%
Мыши	15,5–170,6	7,89–8,5	–	7,5–13,0	3,5–4,0
Крысы	10,8–19,6	6,0–9,3	2,7–4,0	11,8–16,0	1,0–4,7
Морские свинки	14,8–16,0	5,5–6,0	2,1±0,16	6,0–16,6	0,6
Кролики	10,5–13,3	3,1–6,0	2,6±0,1	7,1–11,3	0,5–1,0

Таблица 15.3

Показатели нормы иммунного статуса человека (Методические рекомендации…, 1992)

Показатели	Единицы измерения	Содержание в норме
Общее число лейкоцитов	тыс./мкл	4,5–9,5
Нейтрофилы	%	50–77
Лимфоциты	%	18–38
Моноциты	%	2–10
Базофилы	%	0,5–1,0
Эозинофилы	%	1,0–5,0

15.3.2. ВЫБОР ЖИВОТНЫХ (ВОЗРАСТ, ПОЛ, КОЛИЧЕСТВО)

Проблема выбора животных обуславливается анатомическими, физиологическими, биохимическими особенностями организма и подчинена общим правилам токсикологических исследований. Для достижения оптимально стабильных результатов на минимальном количестве экспериментальных животных в опытах наиболее целесообразно использовать линейных мышей, характеризующихся особенностями Ir-генного контроля. Это объясняется тем, что у «высоко-» и «низкоотвечающих» мышей под влиянием ксенобиотиков наблюдается различная модуляция иммуногенеза. При изучении гуморального иммунного ответа чаще всего используют мышей линии CBA

(H–2k) и BALB/c. В реакциях клеточного иммунитета можно использовать мышей линии CBA либо гибридов 1-го поколения (CBA × C57BL/6). Допускается также работа на морских свинках и белых крысах.

Возрастные различия также обуславливают различные ответные реакции организма на введение ксенобиотиков. Проводят опыты на молодых, но половозрелых животных одного возраста (8–12 недель), полученных одновременно из одного питомника и находящихся в одинаковых условиях кормления и содержания. Число животных в группе должно быть достаточным, чтобы получить статистически достоверные результаты: для линейных – 4–5 штук, а для беспородных – не менее 7–10 животных.

Чувствительность самцов и самок к одному и тому же ксенобиотику неодинакова. Так, например, самцы оказываются менее устойчивыми к кожному действию многих химических веществ, чем самки. Поэтому желательно проведение опыта на животных обоих полов.

15.3.3. ИММУНИЗАЦИЯ ЖИВОТНЫХ

При изучении гуморального иммунного ответа в качестве антигена служат трижды отмытые эритроциты барана (ЭБ). Отмывание ЭБ проводят путем центрифугирования в течение 10 минут при 2000 об./мин и приготавливают 10%-ную эритроцитарную взвесь, которую вводят линейным мышам внутрибрюшинно, однократно, по 0,2 мл на каждое животное (2×10^8 клеток).

При оценке клеточного иммунитета в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) в качестве антигена (АГ) используют либо ЭБ (2×10^5 клеток), либо метилированный бычий сывороточный альбумин (МБСА) – 250 мкг/0,1 мл физиологического раствора. В данной модельной системе растворы АГ вводят подкожно в холку животных туберкулиновым шприцем по 0,1 мл. Для более интенсивного развития реакции используют адъювант – синьку Эванса (250 мкг/0,1 мл раствора), которую вводят одновременно с АГ.

Рис. 15.2. Характер иммунного ответа при однократном введении антигена в разных дозах

15.3.4. РАСЧЕТ ДОЗ ДЛЯ ИСПЫТАНИЯ

Рекомендуется испытывать не менее 3–4 доз (концентраций, уровней) исследуемых факторов, разрыв между которыми не должен быть менее 2–5 кратностей.

Известно, что при однократном введении АГ характер развивающейся иммунной реакции зависит не только от свойств АГ, но и от его дозы.

Так, при введении АГ в низких дозах, как правило, стимулируется преимущественно Т-клеточный иммунный ответ (ГЗТ). Увеличение дозы АГ сопровождается формированием гуморального иммунного ответа. Введение АГ в очень больших дозах стимулирует субпопуляцию Т-клеток и вызывает состояние специфической иммунологической толерантности («паралич» к данному АГ) (рис. 15.2).

15.3.5. ПУТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА ОРГАНИЗМ

Ориентирами при выборе пути воздействия химического вещества для испытания могут служить известные показатели общетоксического действия.

Большое значение имеет способ введения исследуемого вещества или комплекса веществ животным. Для выявления минимально действующей дозы и установления зависимости «время – эффект» необходимо использовать такой способ введения изучаемого вещества, который был бы адекватен естественному пути при поступлении этого ксенобиотика. Обычно применяют пероральный (через пищеварительный тракт), ингаляционный и парентеральный (подкожный, внутримышечный, внутривенный) способы введения.

15.3.6. ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Исследование иммунотоксичности химических веществ проводится при однократном, повторном и длительном введении.

При однократном введении устанавливают верхние параметры действия. Определяют среднесмертельную дозу ($ЛД_{50}$) и максимально переносимую дозу ($ЛД_{10}$). Установление пороговой дозы (концентрации) нужно для определения зоны токсического действия (отношение $ЛД_{50}$ или $СД_{50}$ к пороговой дозе). Чем ниже доза токсического действия, тем больше опасность острого отравления.

При повторном введении уточняют в динамике симптомы отравления как в клинической картине, так и в функциях организма животных. При этом используют широкий круг методик, чтобы иметь возможность выбрать наиболее чувствительные для последующего хронического опыта.

Продолжительность подострого опыта обычно 2–4 месяца. Вводимая доза (концентрация) вещества составляет от 1/5 до 1/20 $ЛД_{50}$. Выбор зависит от диапазона параметров действия данного вещества, его физико-химических свойств и, в первую очередь, от задач, поставленных перед исследователем.

Особое значение имеет хронический опыт с длительным введением малых доз химических веществ животным. Целью этих экспериментов является установление пороговых и подпороговых (недействующих) доз и концентраций. Обычно исследуют действие вещества на животных двух видов, наиболее чувствительных к данному веществу (что выявляется в остром опыте). Изучают действие 2–3 доз (концентраций). При выборе доз учитывают пороговую концентрацию, данные подострых опытов, выраженность кумулятивного действия (способность к накоплению в организме исследуемых веществ при продолжительном их применении в небольших дозах), литературные данные о токсичности веществ по характеру действия сходных с исследуемым веществом. Чаще испытывается 1/2–1/10 часть пороговой дозы (концентрации). В ряде опытов приходится уменьшать количество исследуемого вещества в

100 раз. Но всегда следует включать одну дозу, которая вызывает отклонения в иммунных реакциях организма. Это нужно для того, чтобы слабые изменения, которые отмечаются при действии пороговой дозы, могли быть подтверждены более выраженными аналогичными нарушениями при воздействии токсической дозы.

Обязательно выделяют контрольную группу животных, которых подвергают таким же процедурам, как и подопытных, кроме введения вещества. Для выявления иммуноповреждающего эффекта вредных факторов среды достаточно проведения наблюдения за животными в период до 30 дней (подострый опыт воздействия).

Наблюдения за состоянием организма экспериментальных животных осуществляется в следующие временные интервалы: а) до воздействия (фон): б) после 2 и 4 недель воздействия; в) в восстановительный период в течение 2–3 месяцев.

15.3.7. ЭКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКОЕ РЕГЛАМЕНТИРОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АЛЛЕРГЕНОВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ И АТМОСФЕРЫ

Эколого-гигиеническое регламентирование содержания аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы включает в себя два этапа. Целью первого этапа является выявление аллергенных свойств изучаемого вещества (рис. 15.3). Целью второго – обоснование величины гигиенического норматива (рис. 15.4).

На первом этапе исследований используют методы экспресс-сенсибилизации морских свинок и мышей.

При изучении простых химических соединений рекомендуется применение метода сенсибилизации морских свинок внутрикожно в зону уха и/или воспроизведение гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на мышах.

Сенсибилизация морских свинок как наиболее чувствительного вида лабораторных животных к действию химических аллергенов позволяет оценить аллергенную активность изучаемого вещества. С этой целью животных сенсибилизируют введением в зону уха двух доз вещества: 50 и 200 мкг/животное. Воспроизведение ГЗТ на мышах позволяет выявить аллергенные свойства не только растворимых, но также не растворимых в воде твердых и пастообразных веществ, обладающих сильной или умеренной аллергенной активностью. Поскольку введение мышам слабых аллергенов не проявляется развитием четко выраженной ГЗТ, при отрицательном или сомнительном результате данного эксперимента на мышах следует дополнительно провести сенсибилизацию морских свинок в дозе 200 мкг/животное. При этом, а также для веществ с предполагаемой слабой аллергенной активностью, не исключается использование еще более высокой сенсибилизирующей дозы – 500 мкг/животное. При изучении сложных по составу и неотвержденных полимерных продуктов осуществляют комбинированную сенсибилизацию морских свинок (в кожу уха и дополнительно эпикутанно) и/или применяют метод воспроизведения ГЗТ на мышах.

Рис. 15.3. Схема постановки исследований на первом этапе исследований при выявлении аллергенных свойств исследуемых веществ

Рис. 15.4. Схема постановки исследований на втором этапе исследований для обоснования величины санитарного стандарта

В дополнение к этим обязательным приемам исследований первого этапа по соответствующим показаниям могут быть использованы также и другие способы сенсибилизации животных. Так, при исследовании химических соединений и продуктов, особенно пастообразных и вязких, загрязняющих кожные покровы рабочих, целесообразна проверка возможности развития контактной аллергии методом многократных эпикутанных аппликаций на морских свинках. Для водонерастворимых промышленных пылей уже на первом этапе исследования может быть применен способ внутритрахеальной сенсибилизации белых крыс.

Если на первом этапе исследования аллергенные свойства у изучаемого вещества не выявлены, то его нормируют как вещество общетоксического действия. Если хотя бы один из приемов сенсибилизации позволил выявить аллергенные свойства изучаемого вещества, то обязательно проводят второй этап исследований.

15.3.8. МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ ОРГАНИЗМА НА ПЕРВОМ ЭТАПЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

Внутрикожная сенсибилизация морских свинок. В эксперименте используют молодых морских свинок массой 250–300 г, разделенных на 2 опытных и одну общую контрольную группы по 8–10 животных в каждой. Животных опытных групп сенсибилизируют, вводя однократно в кожу наружной поверхности уха ближе к его основанию 50 мкг (1-я опытная группа) и 200 мкг на животное (2-я опытная группа) изучаемое вещество в объеме 0,02–0,1 мл. В качестве растворителей применяют дистиллированную воду, физиологический раствор, ацетон, спирт, твин-80, диметилсульфоксид и др. При изучении маслообразных продуктов используют водные эмульсии, а для отвержденных полимеров – вытяжки (изучаемое вещество и физиологический раствор в соотношении 1:1 для полимеризационных и 1:10 для поликонденсационных продуктов при инкубации при 37°С в течение 3–5 суток.). Контрольным животным вводят в том же объеме растворитель, эмульгатор или экстрагирующую жидкость.

Выявление сенсибилизации проводят через 8–10 дней. Сильные аллергены в обеих дозах вызывают у морских свинок выраженную сенсибилизацию: среднегрупповой показатель аллергологических тестов статистически достоверно отличается от такового у контрольных животных. Умеренные аллергены выраженную сенсибилизацию вызывают лишь при введении в дозе 200 мкг на животное, а при введении 50 мкг на животное – слабую, при которой сенсибилизация обнаруживается у 1/3–1/2 части животных, поэтому среднегрупповые показатели аллергологических тестов могут не отличаться у опытных и контрольных животных. Слабые аллергены вызывают слабую сенсибилизацию лишь при введении вещества в дозе 200 мкг на животное, при этом положительными могут быть лишь тесты с клетками крови, а кожные пробы – отрицательными.

Комбинированная сенсибилизация морских свинок. Сложные продукты и неотвержденные полимеры могут очень плохо всасываться, и в этом случае сенсибилизация у морских свинок не наступает даже при введении в кожу уха 200 мкг/на животное. Для окончательного решения о наличии аллергенных свойств при отрицательных результатах аллергологического тестирования животных на следующий день начинают эпикутанные аппликации вещества. После 7-й аппликации повторно проводят тестирование морских свинок.

Концентрацию вещества для эпикутанных аппликаций подбирают в процессе изучения раздражающего кожу действия или в специальном эксперименте: 6–8 морским свинкам массой 250–300 г в течение 7–10 дней (по 5 раз в неделю) наносят по 3 капли изучаемого вещества и его разведений 1:2, 1:10 и 1:100 на выстриженные «окошки» боковой поверхности туловища размером 2×2 см. В качестве растворителя удобно использовать летучий, не раздражающий кожу растворитель (ацетон, 70°-ный спирт, диметилсульфоксид). Если образуется пленка, то ее через 4 часа смывают, в остальных случаях кожу ничем не обрабатывают. Из нерастворимых веществ готовят мази (лучше на ланолине, а не на вазелине), которые распределяют глазной лопаточкой по по-

верхности «окошка». Для сенсибилизации выбирают максимальную концентрацию, не вызвавшую развития контактного дерматита.

Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) на мышах. В опытную и контрольную группы берут по 10 мышей чистой линии (BALB/c, CA-1, DBA/2) или по 16–20 белых беспородных мышей массой 18–20 г. Животных сенсибилизируют 10 мМ или 100 мкг изучаемого вещества однократно внутрикожно в основание хвоста. Сенсибилизирующая доза вещества эмульгируется в 60 мкл смеси полного адьюванта Фрейнда (ПАФ) и раствора Хенкса pH 7,5, приготовленной в соотношении 1:1. Состав ПАФ: 1 мл ланолина, 3 мл вазелинового масла, 5 мг убитой нагреванием вакцины БЦЖ. В этот объем ПАФ добавляют 50 мкл твина-20 и 0,5 мл дистиллированной воды. Смесь автоклавируют. Контрольным животным вводят 60 мкл данной смеси без добавления изучаемого вещества.

Для выявления сенсибилизации через 5 суток в подушечку задней лапы мышей вводят такое же, как и при сенсибилизации, количество изучаемого вещества (10 мМ или 100 мкг), растворенного (взвешенного) в растворе Хенкса. Через 24 часа измеряют инженерным микрометром МК-0-25 толщину обеих задних лап в мм. О величине отека, т.е. о развитии ГЗТ, судят по разнице в толщине обеих задних лап (показатель ГЗТ). У контрольных животных она, как правило, составляет 0,04–0,09 мм. Статистически значимое превышение среднегруппового показателя ГЗТ опытных животных по сравнению с контрольными свидетельствует о наличии выраженных или умеренных сенсибилизирующих свойств у изучаемого вещества.

Многократные эпикутанные аппликации на морских свинках. Подбор сенсибилизирующей концентрации осуществляют так же, как при комбинированной сенсибилизации. Эпикутанные аппликации проводят по 5 раз в неделю в течение 4 недель (всего 20 аппликаций). Если на 2–3–й неделе опыта у морских свинок появляются признаки контактного дерматита, то сенсибилизирующие аппликации продолжают на другом участке кожи. Выявление сенсибилизации проводят через 1–2 суток после последней аппликации. При этом капельную кожную пробу ставят на противоположном боку.

15.3.9. ПОСТАНОВКА ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ОБОСНОВАНИЮ ВЕЛИЧИНЫ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ

Второй этап исследований, в зависимости от приема нормирования (по аналогии, ускоренной или полной схеме), включает следующие токсиколого–аллергологические эксперименты.

При нормировании по аналогии проводят сравнение выраженности и частоты сенсибилизации у животных, вызванных введением референс-аллергена и изучаемого вещества, используя методы экспресс-сенсибилизации первого этапа. При нормировании нерастворимых пылей возможно также применение внутритрахеальной сенсибилизации белых крыс. Для простых химических соединений референс-аллергеном является уже нормированное вещество, сходное по своей химической структуре и содержащее одинаковые, ответственные за развитие сенсибилизации активные химические группы. Рефе-

ренс-аллергеном для сложной композиции служит уже нормированная композиция, близкая по составу и содержащая одинаковый ответственный за развитие сенсибилизации ингредиент.

При отсутствии референс-аллергена второй этап исследований включает экспериментальное определение порогов сенсибилизации: при однократной ингаляции вещества – $Lim_{sens\ ac}$, при многократных ингаляциях – $Lim_{sens\ ch}$ Сравнение величин $Lim_{sens\ ac}$ и $Lim_{sens\ ch}$ с Lim_{ac} и Lim_{ch}, установленных в токсикологических экспериментах по интегральным и специфическим эффектам, позволяет определить, является ли сенсибилизирующее действие лимитирующим. Величину гигиенического норматива обосновывают с учетом этих данных.

При нормировании сложных химических продуктов сенсибилизацию животных на обоих этапах исследования осуществляют цельным продуктом; при выявлении сенсибилизации для тестирования применяют все основные ингредиенты в чистом виде, а при неизвестном составе – цельный продукт или вытяжку из него.

Интратрахеальная сенсибилизация белых крыс. Двум группам белых крыс вводят однократно в трахею 0,5–1,0 мл суспензии максимально измельченной изучаемой пыли в дозах по 50 и 10 мг на подогретом до 37°С физиологическом растворе. Животным контрольной группы вводят по 1 мл подогретого до 37°С физиологического раствора.

Процедуру введения лучше осуществлять без наркоза. Для этого крысу фиксируют в вертикальном положении, вводят в ротовую полость металлический зонд, закрепленный на шприце с соответствующей дозой суспензии, проводят его по передней стенке гортани через голосовую щель (возникает ощущение препятствия) до упора в бифуркацию трахеи, слегка приподнимают зонд и осуществляют введение. После введения животное продолжают держать в вертикальном положении на протяжении нескольких дыхательных движений. При этом хрипы и хлюпающий звук подтверждают проникновение суспензии в легкие.

Тестирование животных всех групп проводят через 5 суток после интратрахеального введения.

Однократное ингаляционное воздействие. Однократные ингаляции вещества с целью определения величины $Lim_{sens\ ch}$ целесообразно проводить на морских свинках или белых крысах после нахождения величины Lim_{ac}. Для слабых и умеренных аллергенов обычно достаточно проводить ингаляции изучаемого вещества в концентрациях на уровне действующей, пороговой и на порядок ниже таковой по общетоксическому эффекту. При изучении сильных аллергенов приходится еще проводить ингаляции в меньших концентрациях. Длительность каждой ингаляции составляет при установлении нормативов для воздуха рабочей зоны 4 часа, для атмосферного воздуха – 24 часа. Число животных в группе должно быть не менее 10.

Однократные ингаляции следует проводить на крысах с тем, чтобы можно было сравнить величины $Lim_{sens\ ch}$ и Lim_{ac}, полученные на одном виде животных. Однако, если на крысах однократная ингаляция не вызывает сенсибилизации, то ее надо повторить на морских свинках.

Выявление сенсибилизации осуществляют через неделю после проведения ингаляции.

За $Lim_{sens\ ch}$ принимают концентрацию вещества, однократная ингаляция которой вызывает сенсибилизацию у 2–5 из 10 животных, проявляющуюся положительными лабораторными тестами и/или провокационными пробами. При этом среднегрупповые значения показателей сенсибилизации могут статистически значимо не отличаться от контрольных.

Многократное ингаляционное воздействие. Многократные ингаляции проводят на животных того же вида, на которых установили $Lim_{sens\ ch}$. Продолжительность воздействия составляет: при установлении ПДК в воздухе рабочей зоны 4 часа ежедневно 5 раз в неделю в продолжение 2 недель, для ПДК в атмосферном воздухе – 14 суток непрерывного (круглосуточного) воздействия. Соответственно через 2 недели проводят первое тестирование животных. При отрицательном или сомнительном результате ингаляции продолжают еще 2 недели в том же режиме и проводят повторное тестирование. При установлении ПДК в воздухе рабочей зоны общая продолжительность воздействия не должна превышать одного месяца, а для атмосферного воздуха опыт может быть продолжен до двух месяцев. Более длительное воздействие нецелесообразно, поскольку оно не ведет к усилению сенсибилизирующего эффекта. Более того, последующие ингаляции могут привести к ослаблению эффекта из-за развития компенсаторных иммунных процессов и существенно затруднят определение пороговой концентрации. Таким образом, 2–4-недельный эксперимент по своему эффекту в принципе равнозначен хроническому токсикологическому эксперименту, что позволяет проводить сравнение величин Lim_{ch} и $Lim_{sens\ ch}$.

Определение пороговой концентрации по сенсибилизирующему эффекту ($Lim_{sens\ ch}$) проводят по тем же принципам, что и при однократном ингаляционном воздействии.

15.3.10. МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ АЛЛЕРГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

На первом и втором этапах исследования рекомендуется использовать не менее двух специфических методов выявления сенсибилизации: провокационную пробу *in vivo* и какой-либо аллерготест *in vitro*.

Провокационная кожная капельная проба на морских свинках. Для проведения кожной капельной пробы предварительно проводят *подбор тестирующей концентрации* изучаемого вещества на группе интактных морских свинок (6–8 особей). Для этого на боковых поверхностях туловища животного выстригают шерсть на 4–6 участках размером 1×1 см, разделенных полосками шерсти. На соответствующий участок наносят по 1–3 капли вещества в определенной концентрации. Обычно испытывают вещество в нативном виде и его двукратные или десятикратные разведения. В качестве растворителя (разбавителя) используют воду, 70°-ный спирт, ацетон, диметилсульфоксид. При этом один из участков кожи должен быть контрольным, на кото-

рый наносят соответствующий растворитель (разбавитель). Реакцию учитывают визуально через 24 часа.

В качестве тестирующей концентрации выбирают максимальную, нанесение которой на кожу интактных морских свинок не вызывает через 24 часа реакцию раздражения (эритемы, опухания).

Постановка кожной пробы. На лишенную шерсти кожу бока морских свинок (опытных и контрольных) наносят по 1 капле изучаемого вещества в тестирующей концентрации. Реакцию оценивают визуально через 24 часа по следующей шкале:

0 баллов – видимой реакции нет;

1 балл – слабо-розовая эритема по всему участку или по периферии;

2 балла – ярко-розовая эритема по всему участку или по периферии;

3 балла – ярко-красная эритема по всему участку;

4 балла – опухание кожи с эритемой или без нее;

5 баллов – выраженное опухание, очаговые изъязвления, геморрагии.

Провокационный тест опухания уха. Тест опухания уха (ТОУ) как вариант провокационной кожной пробы можно использовать на любом виде лабораторных животных с любыми веществами, в том числе и с красителями.

Подбор тестирующей концентрации в принципе не отличается от такового для кожной пробы: используются те же растворители (ацетон, 70°-ный спирт) и разведения вещества (от 0,1 до 20%, реже 50% или неразведенный продукт). Однако общее число животных увеличивают, так как на одном животном можно испытывать только две концентрации (по одной на каждое ухо).

Постановка теста: предварительно измеряют микрометром в мм толщину средней части ушной раковины, затем на обе поверхности средней трети расправленного и фиксированного пинцетом ушка наносят по 25 мкл испытуемого вещества в рабочей концентрации. Через 24 часа повторно замеряют толщину ушка и вычисляют показатель ТОУ по различию толщины до и после аппликации. ТОУ считают положительным у морских свинок и крыс при показателе 0,03 мм и более, у мышей – 0,01 мм и более. У морских свинок тест можно учитывать в баллах по следующей шкале:

0 баллов – до 0,03 мм;

1 балл – 0,03–0,07 мм;

2 балла – 0,08–0,12 мм;

3 балла – 0,13–0,17 мм;

4 балла – 0,18–0,22 мм;

5 баллов – 0,23 мм и более.

Подбор рабочих доз вещества для постановки специфических аллерготестов с клетками крови животных. Специфические аллерготесты с клетками крови, как правило, выполняют с 0,1–0,01%-ными растворами (на физиологическом растворе), поэтому в них можно использовать малорастворимые вещества. Для веществ, не растворяемых в воде даже в таких концентрациях, следует подобрать водорастворимое вещество, имеющее групповую антигенную детерминанту, например, для формальдегидсодержащих полимерных продуктов – растворы формальдегида; для полимерных продуктов,

содержащих эпоксигруппы – эпихлоргидрин; для всех соединений хрома – $CrCl_3$; для металла бериллия и его соединений – сульфат бериллия и т.д. При изучении отвержденных полимеров используют вытяжку: изучаемое вещество и физиологический раствор в соотношении 1:1 для полимеризационных и 1:10 для поликонденсационных продуктов при инкубации при 37°С в течение 3–5 суток.

Растворы желательно приготавливать не из технических продуктов, а из химически чистых веществ. Поскольку кислая или щелочная среда может вызвать повреждение клеток крови, следует следить, чтобы pH рабочего раствора была нейтральной или слабо щелочной (pH 7,2–7,4). Если вещество образует нестойкий раствор, рабочие растворы необходимо готовить для каждого опыта. Стойкие растворы можно хранить в холодильнике в течение месяца, однако при этом следует следить за их стерильностью и в случае помутнения или образования пленки раствор использовать нельзя.

Рабочие дозы (концентрации растворов) испытуемых веществ подбирают путем постановки теста с кровью интактных животных, используя несколько разведений. Для выявления сенсибилизации выбирают максимальную концентрацию раствора, не вызывающую увеличения лизиса или других соответствующих тесту изменений клеток крови по сравнению с контрольной пробой с добавлением только антикоагулянта.

Реакция специфического лизиса лейкоцитов крови (РСЛЛ). Реакцию специфического лизиса лейкоцитов можно выполнять в пробирках, планшетах, меланжерах с гепаринизированной кровью.

Вариант 1. В первую пробирку или лунку планшета вносят 0,1 мл физиологического раствора (контрольная проба), во вторую – 0,1 мл физиологического раствора, в котором предварительно растворена рабочая доза испытуемого вещества (опытная проба). Затем в обе пробирки добавляют по 0,1 мл исследуемой крови. Реагирующие системы перемешивают встряхиванием и инкубируют в течение 2 часов при 37°С. Из каждой пробы кровь переносят по 0,02 мл соответственно в две пробирки или лунки планшета, содержащие для разрушения эритроцитов по 0,4 мл 3%-ного водного раствора уксусной кислоты.

Вариант 2. В два меланжера до метки 0,5 набирают кровь экспериментальных животных, затем в первый меланжер до метки 1 добавляют 5%-ный раствор лимоннокислого натрия, приготовленный на физиологическом растворе (контрольная проба), во второй (до той же метки 1) – 5%-ный раствор лимоннокислого натрия, в котором предварительно растворена рабочая доза испытуемого вещества (опытная проба). Меланжеры встряхивают и инкубируют при 37°С в течение 2 часов. Затем в оба меланжера до метки 2 набирают 3–5%-ный водный раствор уксусной кислоты, подкрашенный метиленовым синим.

Подсчет абсолютного количества лейкоцитов проводят в счетной камере крови или с помощью счётчика форменных элементов крови «Пикоскель ПС–4М». При использовании меланжеров до заполнения камеры предварительно сливают 3–4 капли.

Показатель РСЛЛ рассчитывают по формуле:

$$\text{показатель РСЛЛ} = \frac{Л_{контроль} - Л_{опыт}}{Л_{контроль}} \cdot 100\%, \qquad (15.1)$$

где Л – абсолютное число лейкоцитов, тыс/мм^3.

Реакцию расценивают как положительную при показателе лизиса лейкоцитов 10% и выше. Показатель РСЛЛ выше 20% свидетельствует о высоком уровне сенсибилизации животных.

Рабочие концентрации химических аллергенов не должны вызывать лизис более 9% лейкоцитов интактных животных и наиболее часто соответствуют 0,5–0,05%-ным разведениям на физиологическом растворе; более высокого разведения требуют вещества, обладающие выраженным раздражающим, а следовательно, цитотоксическим действием на клетки крови.

Реакция специфического повреждения нейтрофилов (ППН). Для постановки реакции специфического повреждения нейтрофилов в качестве антикоагулянта применяют 5%-ный водный раствор цитрата натрия или 1,5%-ный раствор ЭДТА (Хелатон–3), приготовленный на физиологическом растворе (следить за pH раствора).

Рабочую концентрацию изучаемого вещества готовят на том же антикоагулянте, который добавляют к крови. Рабочая концентрация не должна вызывать повреждения более 4% нейтрофилов интактных животных в 1-м варианте теста ППН и 7% – во 2-м варианте.

Постановка теста ППН. В первую силиконированную центрифужную пробирку (опытная проба) вносят 0,1–0,2 мл раствора изучаемого вещества в рабочей концентрации, во вторую (контрольная проба) – такой же объем только антикоагулянта. Затем в обе пробирки добавляют такой же объем крови обследуемого животного, после чего пробирки осторожно перемешивают и выдерживают в течение 1 ч при комнатной температуре.

Далее тест ППН может выполняться по любому из двух вариантов.

Вариант 1. После окончания инкубации из обеих пробирок готовят на предметном стекле мазки средней толщины, которые фиксируют и окрашивают методом, используемым при окраске мазков для подсчета лейкоцитарной формулы. Под иммерсией просчитывают 100 нейтрофилов, учитывая число клеток с отчетливым хроматинолизом, пикнозом, фрагментацией ядер, гиперхроматозом или кариолизисом.

Вариант 2. После окончания инкубации снова осторожно перемешивают и добавляют в обе пробирки по 0,02 мл рабочего водного раствора акридина оранжевого (1:20000). Данный раствор хранят в холодильнике не более 2 недель. Для его приготовления используют водный раствор акридина оранжевого в разведении 1:100, который можно хранить в темном флаконе в холодильнике несколько месяцев. Через 5 минут по 1 капле содержимого из каждой пробирки переносят на два предметных стекла, накрывают покровным стеклом и через 3–5 минут исследуют на люминесцентном микроскопе с иммерсией. Подсчитывают 100 нейтрофилов, которые хорошо определяются благодаря обилию рубиновых гранул на фоне тусклого зеленого свечения цитоплазмы.

Нормальные неповрежденные нейтрофилы имеют овальную или круглую форму. Поврежденные нейтрофилы распознают по характерным амебоидным выпячиваниям (увеличение подвижности клеток) и морфологическим изменениям (неровные «разорванные» края с начинающимся разрежением цитоплазмы по краям клетки, вакуолизация цитоплазмы, дегрануляция, огрубление хроматинового рисунка ядра).

Показатель реакции высчитывают по формуле:

$$\text{показатель ППН} = \frac{H_{\text{о}} - H_{\text{к}}}{100}, \qquad (15.2)$$

где $H_{\text{о}}$ – число поврежденных нейтрофилов в опытной пробе; $H_{\text{к}}$ – число поврежденных нейтрофилов в контрольной пробе.

Величина показателя 0,05 и более в первом варианте и 0,08 и более во втором варианте свидетельствует о сенсибилизации животного.

Реакция специфической дегрануляции тучных клеток (РДТК). Реакция дегрануляции тучных клеток является аналогом базофильного теста и может выполняться на морских свинках и крысах, у которых содержание базофилов в крови крайне низкое.

Исследование выполняют под наркозом или сразу после декапитации животного. Для этого ножницами вскрывают брюшную стенку по средней линии и осторожно (лучше пальцами в резиновых напальчниках, а не пинцетом) вытягивают наружу наиболее длинную петлю перистальтирующего кишечника (5 см или несколько длиннее). Раскладывают петлю на подставленное предметное стекло так, чтобы раскрылись 3 крупных сегмента брыжейки. После этого отсекают с двух сторон участок петли кишечника, края которого должны на 0,5 см свешиваться за край стекла. Затем на каждый сегмент первого, контрольного, препарата наносят по 40 мкл физиологического раствора, а на каждый сегмент второго, опытного, препарата наносят по 20 мкл свежей аутосыворотки (приготовленной в день исследования из крови, взятой из подъязычной вены) и по 20 мкл изучаемого вещества в рабочей концентрации, приготовленной на физиологическом растворе. Оба препарата инкубируют 5 минут при 37°С, удаляют жидкую фазу путем промокания фильтровальной бумагой края наклоненного стекла и при необходимости еще раз осторожно расправляют брыжейку. Сразу производят окраску препаратов, заливая их на 1–1,5 минуты 1%-ным раствором на метиловом спирте эозинметиленового красителя (по Маю – Грюнвальду). Краску удаляют промыванием слегка наклоненного препарата водой из пипетки и оставляют до полного просушивания на воздухе (обычно 24 часа). На высушенном препарате скальпелем удаляют весь участок кишечника и перегородки между секторами брыжейки.

Микроскопируют препараты с иммерсией (увеличение 10×100), просчитывают по диагонали 50 тучных клеток (ТК), учитывая среди них поврежденные формы. Поврежденными следует считать тучные клетки с нарушенной мембраной и выходом гранул за ее пределы (дегрануляция), а также полностью поврежденные. Рассчитывают показатель РДТК по формуле:

$$\text{показатель ДТК} = \frac{\text{\% поврежденных ТК в опыте}}{\text{\% поврежденных ТК в контроле}}. \qquad (15.3)$$

Реакцию расценивают как положительную при показателе 1,31 и выше.

Рабочие концентрации химических веществ для РДТК наиболее часто соответствуют 0,01–0,001%-ным разведениям на физиологическом растворе, при действии которых у контрольных животных показатель ДТК не должен превышать 1,0±0,3.

Реакция непрямой дегрануляции тучных клеток (РНТДК). Тест основан на реакции клеток-мишеней (тучные клетки белых крыс) на воздействие на них *in vitro* аллергических антител, содержащихся в сыворотке крови подопытных животных и изучаемого вещества (аллергена).

Для получения пула тучных клеток интактным белым крысам под эфирным наркозом вводят внутрибрюшинно 6–10 мл подогретого до 37°С физиологического раствора, смешанного с 0,5 мл гепарина. После легкого массажа брюшной стенки ножницами делают разрез длиной 1,5–2,2 см по средней линии живота, переворачивают тушку разрезом вниз и собирают экссудат, стекающий с петель кишечника, в центрифужную пробирку, смоченную гепарином. Экссудат центрифугируют в течение 5 мин при 1500 об/мин, надосадок сливают, а осадок для получения взвеси тучных клеток перемешивают.

Для выполнения РНДТК в 2 лунки планшета или 2 пробирки вносят по 0,05 мл взвеси тучных клеток и 0,05 мл сыворотки обследуемого животного. Затем в 1-ю пробу (контрольную) добавляют 0,05 мл физиологического раствора, во 2-ю пробу (опытную) – 0,05 мл физиологического раствора, в котором растворена рабочая доза изучаемого вещества (0,01–0,001%-ные растворы, которые не должны вызывать спонтанного повреждения более 5% клеток-мишеней). Затем на одно обезжиренное предметное стекло, предварительно окрашенное на 2 концах стекла в виде квадратов 0,3%-ным спиртовым раствором нейтрального красного и высушенного при комнатной температуре, наносят по капле из каждой пробы. Каждую каплю накрывают покровным стеклом, края которого смазаны вазелином, и инкубируют при 37°С в течение 15 мин.

Препараты микроскопируют при увеличении 20×100. В каждом препарате подсчитывают 50 тучных клеток. Вычисление показателя РНДТК и его оценку проводят по формуле, приведенной выше, для показателя дегрануляции тучных клеток.

Оценка результатов выявления сенсибилизации. При проведении исследований 1-го этапа оценивают частоту развития сенсибилизации и ее интенсивность по среднегрупповым показателям всех использованных провокационных и специфических аллергологических тестов. Класс аллергенной активности изучаемого вещества определяют по таблице 15.4: к 1-му классу относят сильные, ко 2-му – умеренные и к 3-му – слабые аллергены. В случае различия эффекта по частоте проявления сенсибилизации и величинам среднегрупповых показателей различных провокационных и/или специфических аллергологических тестов аллергенную активность вещества оценивают по наиболее выраженному показателю.

Таблица 15.4

Классификация веществ по силе аллергенной активности

Метод сенсибилизации	Классы аллергенной активности					
	По частоте развития сенсибилизации			По значимости отличия показателей в опытной и контрольной группах		
	1	2	3	1	2	3
Морские свинки, в кожу уха, 200 мкг	>5 из 10	>5 из 10	≤5 из 10	≤0,05	≤0,05	>0,05
Морские свинки, в кожу уха, 50 мкг	>5 из 10	≤5 из 10	0	≤0,05	>0,05	–
Морские свинки, комбинированно	>5 из 10	>5 из 10	≤5 из 10	≤0,05	≤0,05	>0,05
Морские свинки, эпикутанно	>5 из 10	>5 из 10	≤5 из 10	≤0,05	≤0,05	>0,05
Мыши, в кожу основания хвоста	Не учитывают			≤0,05	≤0,05	>0,05

При проведении ингаляционных экспериментов второго этапа исследований за действующую концентрацию принимают такую, при действии которой сенсибилизация развивается более чем у половины животных, а среднегрупповые показатели аллергологических тестов статистически значимо отличаются от показателей контрольных животных. За пороги острого и хронического сенсибилизирующего действия принимают концентрации, при действии которых (одно- или многократно, соответственно) сенсибилизация развивается у 2–5 из 10 животных, при этом среднегрупповые показатели не отличаются от таковых у контрольных животных.

15.3.11. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МЕТОДЫ УСТАНОВЛЕНИЯ АЛЛЕРГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Существенным дополнением к перечисленным тестам на аллергенную активность, является оценка анафилактогенного действия исследуемых веществ. Анафилаксия – состояние повышенной чувствительности организма к повторному введению гомологичного аллергена. Вещество, вызывающее анафилаксию, необязательно должно быть токсичным. Эффективную сенсибилизацию организма легко воспроизвести путем внутривенного введения белков сыворотки крови. Необходимое для сенсибилизации количество антигена должно способствовать образованию антител в организме. Так, например, для морской свинки сенсибилизирующей дозой может быть $5 \cdot 10^{-8}$ г яичного альбумина, либо 0,01 мл гетерогенной сыворотки. Важным фактором в развитии анафилаксии является время. Реакция наблюдается уже через 8–10 дней после введения антигена, иногда повышенная чувствительность сохраняется в течение нескольких месяцев. Анафилактическая реакция обусловлена увеличением в тканях уровня гистамина и других БАВ, которые образуются в ответ на взаимодействие антигена с циркулирующим или тканевым антигеном. Различают несколько видов анафилаксии: местную, общую, пас-

сивную и активную. Мы предлагаем следующие методы оценки каждого типа возможных аллергических реакций.

Реакция общей анафилаксии (анафилактический шок). Анафилактический шок – системная реакция организма, проявляющаяся после вторичного внутривенного введения разрешающей (шоковой) дозы антигена. Сопровождается повышением проницаемости сосудов, сокращением гладкой мускулатуры, бронхоспазмом, удушьем, часто заканчивается смертельным исходом. Сенсибилизацию морских свинок проводят трехкратно по схеме: первая инъекция – подкожно, вторая и третья – внутримышечно в область бедра. Следует обратить внимание на величину сенсибилизирующих доз. Мы рекомендуем разделить опытных животных на две группы: первой вводить исследуемое вещество в минимально действующей либо в эффективной терапевтической дозе, а второй – в дозе в 10 раз превышающей ее. На 14–21-й день после последней сенсибилизирующей инъекции делают разрешающую инъекцию – внутрисердечно или внутривенно. Разрешающая должна быть равна суммарной сенсибилизирующей дозе. Контрольные животные получают только растворитель (вода или физиологический раствор) и на 14–21-й день – разрешающую инъекцию. Учет интенсивности анафилактического шока определяют в индексах по Вейглу:

4+ – шок со смертельным исходом;

3+ – шок средней степени (общие судороги, асфиксия, животные падают на бок, не погибают);

2+ – шок умеренный (небольшие судороги, выраженные явления бронхоспазма);

+ – шок слабый (некоторое беспокойство, учащенное дыхание, почесывание мордочки, непроизвольное мочеиспускание, дефекация, шерсть взъерошена);

0 – отсутствие шока.

Реакция активной кожной анафилаксии. Активная кожная анафилаксия развивается в результате активной сенсибилизации животных антигеном, что приводит к выработке гомоцитотропных антител. Сенсибилизацию морских свинок проводят аналогично постановке общей анафилактической реакции. На 14–21-й день на выстриженных участках спинки морской свинки вводят внутрикожно вещество в двукратных разведениях, в концентрации, не вызывающей раздражающего действия. Препарат вводят микрошприцем, очень аккуратно, с образованием так называемой «лимонной корочки», исключая появление крови в местах введения. Через сутки морским свинкам делают разрешающую инъекцию препарата внутривенно с 0,5 мл 1%-ного раствора синего Эванса. Через 30 мин животных забивают эфиром. Критерием для положительной оценки теста является распространение посинения на внутренней стороне кожи в месте введения препарата. Для контроля реактивности кожи обязательно вводят тому же животному на симметрично выстриженной стороне туловища 0,5 мл растворителя.

Разрешающие инъекции препарата и синего Эванса вводят также и контрольным животным, которые предварительно получали только растворитель по аналогичной схеме с опытными животными. У контрольных животных в месте внутрикожного введения препарата диаметр окрашенного пятна не должен превышать 2–3 мм.

Площадь посинения определяют по формуле эллипса:

$$S = \pi \cdot \frac{AB}{4} = 0,785AB, \qquad (15.4)$$

где A и B – диаметры эллипса.

При положительной реакции диаметр пятна не менее 6 мм. Появление красителя в области реакции антиген – антитело указывает на повышенную проницаемость капилляров, обусловленную высвобождением медиаторов, которое инициируется иммунными реакциями.

Реакция пассивной кожной анафилаксии. Метод заключается в пассивной передаче состояния сенсибилизации интактному животному через аллергические антитела, находящиеся в сыворотке крови сенсибилизированного животного. Реакция проводится для идентификации класса антител с определением их титра, что позволяет оценить степень сенсибилизирующей активности испытуемого вещества.

Сначала приготавливают эмульгированный аллерген со стимулятором Фрейнда в соотношении 1:1, который вводят в лапы морских свинок по 0,1 мл в каждую лапу. Через 21 день кровь забирают для приготовления сывороток. Полученные цельные сыворотки и их разведения (от 1:2 до 1:1024) вводят в объеме 0,1 мл внутрикожно интактным морским свинкам-альбиносам. Через 24 часа животным внутривенно делают разрешающую инъекцию, содержащую испытуемый препарат в дозе, установленной в реакции активной кожной анафилаксии) и 0,5 мл 1%-ного раствора синего Эванса. Через 15 мин. проводят учет реакции. Критерием для положительной оценки теста пассивной кожной анафилаксии является распространение посинения в месте введения сывороток предварительно сенсибилизированным животным.

Титром антител считается наибольшее разведение, при котором возможно осуществление пассивного переноса. Титры антител выражают в log разведения сыворотки.

15.3.12. ОБОСНОВАНИЕ ВЕЛИЧИНЫ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ АЛЛЕРГЕНОВ

Обоснование величины санитарного стандарта промышленного химического аллергена при проведении полной схемы исследований начинают со сравнения $Lim_{sens\ ch}$ с Lim_{ch}. В зависимости от их соотношения определяют прием обоснования ПДК и наличие пометки А (аллерген).

При установлении ПДК *в воздухе рабочей зоны* руководствуются следующими положениями.

Положение 1. *Если лимитирующим критерием является токсичность*, т.е. величины порогов сенсибилизации выше величин порогов токсичности, то вещество практически не представляет опасности как аллерген, и его нормируют как обладающее общетоксическим действием; при этом пометка А (аллерген) не ставится.

Положение 2. *Если пороговые величины общетоксического и сенсибилизирующего действия существенно не отличаются или равны*, то вещество следует рассматривать как потенциально опасное в плане развития токсикоаллергических поражений, и его нормируют по общетоксическому действию, сопровождая пометкой А (аллерген).

Положение 3. *Если лимитирующим критерием является сенсибилизация*, т.е. величины порогов сенсибилизации ниже пороговых величин токсичности, то вещество представляет опасность как этиологический фактор аллергических заболеваний, его расценивают как промышленный химический аллерген и нормируют по сенсибилизирующему действию с пометкой А (аллерген). При этом коэффициент запаса для химического аллергена определяют по табл. 15.5.

Таблица 15.5

Коэффициенты запаса к $Lim_{sens\ ch}$ при установлении ПДК в воздухе рабочей зоны

Величина $Lim_{sens\ ch}$, мг/м^3	Величина коэффициентов запаса
До 1,0	10
1,0–5,0	5
Более 5,0	3

При установлении ПДК вредных веществ, обладающих сенсибилизирующим действием, *в атмосферном воздухе* рекомендуются более строгие критерии, учитывая, что воздействию подвергаются дети, люди пожилого возраста и лица, имеющие различные заболевания. В этом случае учитывают не только величину порога хронического сенсибилизирующего действия, но также зону хронического сенсибилизирующего действия, определяемую по формуле:

$$Z_{sens\ ch} = \frac{Lim_{integr\ ch}}{Lim_{sens\ ch}}. \qquad (15.5)$$

Далее, в соответствии с величиной $Z_{sens\ ch}$, определяют коэффициент запаса к $Lim_{sens\ ch}$ по табл. 15.6. Полученную величину ПДК по сенсибилизирующему эффекту сравнивают с ПДК по общетоксическому действию и в качестве гигиенического норматива выбирают наименьшую величину ПДК. Пометку А (аллерген) ставят в соответствии с принципами обоснования ПДК в воздухе рабочей зоны.

Таблица 15.6

Коэффициенты запаса к $Lim_{sens\ ch}$ при установлении ПДК в атмосферном воздухе

Величина $Z_{sens\ ch}$, мг/м^3	**Величины коэффициентов запаса**
Менее 1,0	Нормируют только по токсичности
1,0	3
Более 1,0 и менее 3,0	5
Более 3,0	10

Пример расчета. Если величины порогов хронического, токсического и сенсибилизирующего совпадают и составляют 0,01 мг/м^3, то $Z_{sens\ ch}$ будет равна 1,0. В этом случае (табл. 15.6), коэффициент запаса по сенсибилизирующему действию не может быть менее 3,0 и величина ПДК составит 0,003 мг/м^3. Если по токсичности (табл. 15.5) коэффициент запаса равен 2,0 (т.е. величина ПДК составит 0,005 мг/м^3), рекомендуется наименьшая величина ПДК. В нашем случае – 0,003 мг/м^3. Но если в разбираемом примере коэффициент запаса по токсичности должен быть не менее 5,0, тогда определенная по данному эффекту величина ПДК будет еще меньше (0,002 мг/м^3), и рекомендуется именно она.

При обосновании ОБУВ ускоренным методом, рассчитывают зону сенсибилизирующего действия вещества по формуле:

$$Z_{sens\ ac} = \frac{Lim_{ac}}{Lim_{sens\ ac}} \qquad (15.6)$$

и уменьшают величину ОБУВ, рассчитанную по общетоксическому действию, во столько раз, сколько составляет $Z_{sens\ ac}$.

Пример расчета. Если расчетным путем по токсичности определена величина ОБУВ равная 0,2 мг/м^3, а $Z_{sens\ ac}$ равна 4, то ОБУВ испытуемого вещества с учетом сенсибилизирующего действия составит 0,05 мг/м^3. Пометку А (аллерген) ставят в соответствии с принципами, используемыми при обосновании ПДК.

При нормировании по аналогии в случае совпадения частоты и интенсивности сенсибилизации, вызванной веществом, с таковыми от воздействия референс-аллергена, ПДК или ОБУВ устанавливают на уровне величины норматива референс-аллергена с пометкой А (аллерген). При существенном отклонении частоты и интенсивности сенсибилизации по сравнению с таковыми от воздействия референс-аллергена, проводят второй этап исследований для обоснования величины ПДК или ОБУВ.

Класс опасности изучаемого вещества определяют по общепринятым в экотоксикологии правилам.

Клинико-гигиеническую проверку безопасности величины ПДК, установленной в эксперименте на животных, осуществляют путем сравнения условий труда и состояния здоровья работающих с использованием общепринятых в профилактической токсикологии приемов, а также на основании эпидемиолого-аллергологического обследования работающих, включая выборочное специфическое иммуноаллергологическое тестирование с целью выявления частоты и выраженности сенсибилизации к данному промышленному аллергену.

Глава 16

ПРИНЦИПЫ И ПРОБЛЕМЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО НОРМИРОВАНИЯ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ ЗАГРЯЗНЯЮЩИМИ ВЕЩЕСТВАМИ

16.1. КОНЦЕПЦИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО НОРМИРОВАНИЯ

Неудовлетворенность существующими теорией и практикой нормирования антропогенной нагрузки на окружающую среду в нашей стране, бывшая признаком «хорошего экологического тона» в XX веке, сохранила свои атрибуты и в XXI веке. Как правило, при обсуждении этой проблемы в качестве базовых рассматривают две концепции: существующую санитарно-гигиеническую, или концепцию ПДК, и альтернативную ей концепцию экологического нормирования. «Pro et contra» этих концепций написано много статей и книг, в полемическом задоре «сломано много копий», но, судя по всему, ясность проблемы по-прежнему остается обратно пропорциональной числу суждений о ней. Критика в отношении применения концепции ПДК для оценки качества природной среды достаточно аргументирована. Однако, перефразируя сэра У. Черчилля, можно сказать, что «концепция ПДК – худшая из природоохранных парадигм, но ничего лучшего человечество пока не предложило». Альтернативная концепция – экологического нормирования – может оказаться иллюзией, ведущей в социально-экологический тупик под названием «устойчивое развитие». Обе дефиниции страдают общим недостатком: в них заложено логическое противоречие между научно-техническим прогрессом и ростом потребностей, с одной стороны, и объективной конечностью ресурсов, необходимых для обеспечения прогресса (или развития), – с другой. Таким образом, методологическая проблема экологического нормирования тесно связана с рассмотрением объект-субъектных (природа – человек) отношений, имеющих по определению антропоцентрическую направленность и антропоморфную природу. Дальнейший анализ в этом направлении может привести к пессимистическому сценарию нашего общего будущего, что выходит за рамки настоящей главы и не является ее целью. Оснований для оптимистического сценария также мало.

Остается реалистический сценарий, в рамках которого, с нашей точки зрения, необходимо добиться компромисса между сторонниками альтернативных концепций и точек зрения, что предполагает болезненную и длительную итерационную процедуру.

В рассматриваемом аспекте следует подчеркнуть, что существующая система гигиенической регламентации является в настоящее время *единствен-*

ной (курсив наш) научно обоснованной информационной базой данных, позволяющей иметь реперные точки для оценки характерных диапазонов эффективных концентраций поллютантов.

Таким образом, продолжая играть важную роль в гигиенической регламентации качества окружающей человека производственной и природной среды, «концепция ПДК» может рассматриваться как введение в разработку концепции «экологического нормирования».

Принцип ориентации на обеспечение безопасности людей отражает наше антропоцентрическое мировоззрение и, как правило, оправдан. Однако остается открытым вопрос, всегда ли и в какой мере нормативы, установленные для человека, обеспечивают защиту других объектов живой природы. Ведь изменение качества природной среды за счет обеднения видового состава, снижение устойчивости и даже частичная деградация экосистем тоже имеют следствием ухудшение условий существования человека. Например, значения ПДК антропогенных радионуклидов в воздухе и воде защищают не только человека, но и другие виды живых организмов. Иначе обстоит дело при загрязнении атмосферы сернистым газом. При длительном воздействии этого загрязнителя в концентрациях, не превышающих санитарно-гигиенические нормы, происходит поражение хвойных лесов. Лишайники гибнут в городской атмосфере, которая по гигиеническим стандартам считается допустимой для человека. В странах Западной Европы и у нас нередки случаи использования питьевой воды, в которой могут выжить далеко не все пресноводные организмы. При некоторых загрязнениях почвы нефтью или тяжелыми металлами может сильно пострадать почвенная микро- и мезофауна (и, значит, будет подорвана продуктивность таких почв), в то время как сельскохозяйственная продукция с этих участков может соответствовать санитарным нормам для продуктов питания. Подобные примеры можно продолжать, но сегодня ясно, что не все объекты природных биогеоценозов можно нормировать по регламентам человека.

Необходимо отметить, что попытка реализовать экологический подход к нормированию вредных веществ апробирована при обосновании ПДК в рыбохозяйственных водоемах путем оценки лимитирующего фактора вредности загрязняющих веществ на разных трофических уровнях. Кроме того, положительные результаты получены при оценке токсичности сточных вод методами биотестирования, но этого явно недостаточно. Таким образом, продолжая играть важную роль в гигиенической регламентации качества окружающей человека производственной и природной среды, «концепция ПДК» может рассматриваться как введение в разработку концепции «экологического нормирования».

Каковы же основные претензии к концепции ПДК?

Федеральные ПДК не учитывают специфику функционирования наземных и водных экосистем в различных природно-климатических зонах (широтная и вертикальная зональность) и биогеохимических провинциях (естественные геохимические аномалии с различным уровнем содержания природных соединений), а значит, и их токсикорезистентность. Известно, что разные биогеохимические провинции (и отдельные водоемы) отличаются друг от друга

по содержанию в поверхностных водах свинца в 2000 раз, никеля – в 1350, цинка – в 500, меди – в 10 000, хрома – в 17 000 раз. Эти факты требуют исследования региональной специфики самоочищающей способности экосистем, и применения региональных ПДК для экосистем в различных климатических и биогеоценотических условиях.

Справедливости ради следует отметить, что принятая в нашей стране система ПДК для почв, при существующем многообразии возможных комбинаций почвенно-климатических факторов, предполагает учет региональной специфики. Действительно, по замыслу разработчиков, ПДК вредных веществ является условной для реальных типов почв (эталонной, реперной величиной), установленной в экстремальных, строго регламентированных почвенно-климатических лабораторных условиях. Для конкретных почвенно-климатических условий должна быть установлена своя региональная величина ПДК, обеспечивающая безопасное содержание вредного вещества для здоровья людей. С этой целью необходимо установить поправочные коэффициенты запаса, умножив на которые установленное в лабораторных условиях значение ПДК загрязняющего вещества для почвы, можно получить *региональные ПДК:* предельно допустимый уровень внесения (ПДУВ) и безопасные остаточные количества (БОК) вредных веществ в почве. К сожалению, практика применения ПДК вредных веществ для почв (особенно в целях контроля) ограничивается в подавляющем большинстве случаев использованием справочных значений.

Здесь же следует отметить прогрессивную тенденцию, заложенную в алгоритм обоснования НДВ для водных объектов. Так, методика обоснования НДВ предусматривает, что для веществ двойного генезиса, в зависимости от конкретных условий и наличия приоритетных видов использования, *нормативы качества воды* могут приниматься *равными нормативам ПДК* химических веществ, которые определяются *с учетом регионального естественного* (условно-естественного) гидрохимического фона дифференцированно для конкретных типов водных объектов. Однако бюрократическая практика согласования и утверждения НДВ, показывает, что федеральные контролирующие организации (в частности, Росводресурсы) предпочитают упорно руководствоваться утвержденными значениями наиболее жестких нормативов (в данном случае $ПДК_{рыб.хоз}$), вместо того чтобы протекционировать в государственном масштабе разработке и обоснованию региональных ПДК.

Далее. Традиционно слабым местом является отсутствие учета эффектов комбинированного действия вредных веществ: синергизма, антагонизма, суммации. В частности, принцип суммирования – аддитивная модель (при многокомпонентном сбросе), используемый в расчетах токсикологической нагрузки веществами одного ЛПВ, некорректен для сублетальных концентраций загрязняющих веществ.

Кроме того, при обосновании ПДК необходимо учитывать разный трофический статус экосистем и сезонные особенности природных факторов, на фоне которых проявляется токсичность загрязняющих веществ. Показано, что, токсичность кадмия при изменении минерализации воды от 40 до 500 мг/дм^3 изменяется в 5 раз. Точно также $ЛК_{50}$ сульфата меди для радужной форели, составляющая при изолированном действии 0,58 мг/дм^3, в присут-

ствии глицина существенно понижается – до 4,7 мг/дм^3, за счет «маскирования» токсичности. Напротив, при соединении с гумусовыми веществами наблюдается повышение токсичности сульфата меди в 500 раз.

Недоучитываются токсические эффекты трансформации загрязняющих веществ в водных экосистемах, приводящие к тому, что промежуточные продукты превращений оказываются более токсичными, чем исходные загрязняющие вещества. Это относится к фенолам, превращающимся в гидрохиноны, или к образованию мутагенных нитрозо- и азосоединений при микробиологической деградации нитро- и азоароматических соединений.

Аналитическое обеспечение контроля содержания загрязняющих веществ отстает от скорости антропогенных изменений в окружающей среде. По экспертным оценкам, методами анализа на уровне ПДК обеспечено примерно 10% от общего количества нормированных веществ. Кроме того, селективность аналитических методов не всегда позволяет различить близкие по химическому составу соединения. Так, например, неразличимые существующим методом в водном объекте анилин и анилин солянокислый различаются по ПДК на три порядка (рыбохозяйственные ПДК анилина 0,0001 мг/л, а анилина солянокислого – 0,1 мг/л).

Существующая практика нормирования качества воды не учитывает эффекты на уровнях биологической организации, которые лежат выше популяционного, т.е. сообщества. Следовательно, центральное звено любой экосистемы – сообщество (или биоценоз) остаётся практически не защищённым.

Все вышеизложенное свидетельствует о необходимости регионального регламентирования антропогенной токсикологической нагрузки на водные экосистемы, поскольку токсикорезистентность организмов (устойчивость организма, его невосприимчивость к токсическим соединениям) в различных зонах и регионах существенно различается, что обусловлено не только климатическими особенностями, но и гидрохимическим режимом (минерализацией, буферностью, самоочищающей способностью). Наследственное закрепление адаптационных возможностей организмов (гидробионтов) к фоновому уровню концентраций веществ природного происхождения (в частности, к металлам) лежит в основе генотипических адаптаций, которые можно рассматривать как основной механизм приспособления популяций к длительному воздействию факторов окружающей среды. В этой связи, по мнению многих специалистов, межрегиональная экстраполяция рыбохозяйственных ПДК недопустима (некорректна) и необходим биогеохимический подход к лимитированию техногенных воздействий на водные экосистемы. В настоящее время эта точка зрения является практически общепринятой среди специалистов.

Задача экологического нормирования антропогенных нагрузок на природные системы должна решаться в тесной взаимосвязи с другими задачами, направленными на разрешение противоречий в развитии природы и человека. Многие ее аспекты могут рассматриваться в разных вариантах в зависимости от того или иного взгляда на место человечества в биосфере. В первом приближении можно рассмотреть два альтернативных представления о путях

поддержания глобальных условий, при которых возможно существование человека.

Первый исходит из того, что человечество должно будет взять все регуляторные функции (касающиеся стабильности геохимических циклов в планетарном масштабе) на себя. В этом случае приходится признать допустимым практически полное разрушение естественных сообществ, при сохранении искусственно поддерживаемых резерватов, имеющих главным образом эстетическое или утилитарное (а не регуляторное) значение. Данный подход вытекает из антропоцентрического и технократического способа мышления, противопоставляющего природу и человечество, то есть является одним из вариантов концепции «покорения природы». С точки зрения современного естествознания, подобные представления носят в значительной мере утопический характер, однако в настоящее время общественный менталитет таков, что они близки и понятны практикам. Здесь открываются широкие возможности для спекуляций на понятии «ноосфера» и односторонней трактовки идей В.И. Вернадского, что придает этим взглядам видимость соответствия современным научным представлениям (заметим, что сам В.И. Вернадский действительно допускал принципиальную возможность регуляции глобальных процессов человеком, однако относил ее реализацию за пределы обозримого будущего).

Второй подход опирается на представления о необходимости поддержания регуляторной функции биосферы, то есть сохранения естественного состояния экологических систем разного ранга. Исходным моментом здесь служит концепция планетарной роли живого вещества, разработанная еще В.И. Вернадским в 20-х годах прошлого столетия и получившая развитие в работах, посвященных глобальной экологии. Например, показана применимость принципа Ле-Шателье к процессам, происходящим в биосфере. С философской точки зрения, этот подход имеет давнюю традицию (наиболее выраженную в мировоззренческих системах Древнего Востока) и исходит из представлений о человеке как неотъемлемой части природы. По нашему мнению, такое мировоззрение более соответствует современной научной картине мира.

Очевидно, что специфичность структурно-функциональной организации наземных и водных экосистем накладывает ограничения на поиск и обоснование «универсальных» критериев оценки их состояния. Тем не менее можно предложить некоторые инвариантные принципы, положенные в основу представления об «экологическом нормировании»:

– пороговость воздействия антропогенного фактора на исследуемую биосистему;

– биологическая изоэффективность действия антропогенных факторов;

– региональность;

– комплексность оценок действия антропогенного фактора на элементы сообщества и сообщество в целом;

– этапность введения экологических нормативов.

Эти принципы имеют несомненную преемственность с основами гигиенического регламентирования, однако их практическая реализация зависит от методологической базы. Различия в методологических посылках гигиенического и экологического нормирования можно выразить, в первом приближении, в виде «решающих правил»:

– для гигиенического нормирования: *«Если уровень антропогенной нагрузки не превышает заданной величины (например, ПДК), то качество среды обитания следует считать приемлемым (допустимым)»*;

– для экологического нормирования: *«Если качество среды обитания, оцениваемое по показателям жизнедеятельности биологических систем (организмов, популяций, сообществ) удовлетворяет установленным критериям, то уровень антропогенной нагрузки можно считать приемлемым (допустимым)»*.

Второе утверждение выражает сущность биотической концепции контроля природной среды, опирающейся на представления об экологической толерантности и примате биологического контроля.

Реализация биотической концепции предусматривает:

– создание репрезентативного массива данных по биологическим параметрам исследуемой био- или экосистемы;

– разработку алгоритма диагностики состояния био- или экосистемы на шкале «норма – патология» (хорошо – плохо);

– создание репрезентативного массива данных по абиотическим параметрам, синхронизированным во времени и пространстве с биологическими.

Ключевым моментом в практической реализации биотической концепции является объективизация экологически допустимых уровней (ЭДУ) – границ в пространстве абиотических факторов между областями нормального и патологического функционирования природных объектов, которая была успешно решена с помощью детерминационного анализа. Последний представляет собой достаточно мощный инструмент анализа многомерных массивов данных.

Хорошо известно, что гигиенические нормативы концентраций вредных веществ в воздухе, воде и продуктах питания предполагают такие уровни воздействия, «которые не могут вызвать заболеваний или отклонений в состоянии здоровья человека, обнаруживаемых современными методами, в процессе работы или на отдаленные сроки жизни настоящего и последующих поколений» (ГОСТ 12.1.003–88). Таким образом, в центре внимания гигиенических нормативов находятся проявления токсичности на уровне отдельного организма и его последующих поколений. Иными принципами необходимо руководствоваться при экологической регламентации, поскольку основным объектом нормирования являются природные системы надорганизменного ранга (популяции, сообщества, биогеоценозы и т.д.). Это значит, например, что допустима вызванная антропогенным воздействием повышенная смертность отдельных особей, если при этом обеспечивается сохранность популяций организмов. Проблемы экологического нормирования могут быть сведены к решению двух кардинальных вопросов: что подлежит нормированию и как реализовать процедуру такой регламентации.

16.2. ПРОБЛЕМА УСТОЙЧИВОСТИ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Несмотря на широкое распространение и использование в научно-технической литературе, термин устойчивость относится к дефинициям, не имеющим четко определенного содержания. Под устойчивостью понимают способность системы сохранять текущее состояние при наличии внешних воздействий. Один из синонимов устойчивости – стабильность – есть способность системы функционировать, не изменяя собственную структуру, и находиться в равновесии. И устойчивость, и стабильность тесно связаны с понятием гомеостаза, предложенным американским физиологом У. Кенноном для обозначения «координированных физиологических процессов, которые поддерживают большинство устойчивых состояний организма». В дальнейшем этот термин распространился на способность динамически сохранять постоянство своего внутреннего состояния любой открытой системы. Заметим, что предшественником У. Кеннона был француз К. Бернар, сформулировавший в 1878 году представление о постоянстве внутренней среды организма. Таким образом, устойчивость вместе со сложностью и целостностью представляет собой одну из важнейших характеристик любой сложной системы и характеризует способность системы поддерживать свою структуру более или менее стабильной на протяжении некоторого отрезка времени.

В экологии вслед за кибернетикой под гомеостазом понимают наличие устойчивых состояний и способность системы самостоятельно достигать их при нарушении равновесия. Так, например, экологический гомеостаз наблюдается в климаксовых сообществах с максимально возможным биоразнообразием при благоприятных условиях среды. В нарушенных экосистемах после прекращения действия возмущающего фактора с течением времени климаксное состояние способно восстанавливаться через ряд промежуточных субклимаксовых состояний. Классическим примером может служить экосистема острова Кракатау. После сильного извержения вулкана в 1883 г. состояние гомеостаза предыдущей лесной климаксовой экосистемы было уничтожено, как и вся жизнь на этом острове. Остров Кракатау за годы после извержения прошёл цепь экологических изменений, в которых новые виды растений и животных сменяли друг друга, что привело к постепенному росту разнообразия и в результате – климаксовому сообществу. В 1983 г., спустя сто лет с того времени, как извержение уничтожило на нём жизнь, на острове образовалось климаксовое сообщество с восемью тысячами зарегистрированных видов. Случай с о. Кракатау и другими нарушенными или нетронутыми экосистемами показывает, что первоначальная колонизация пионерными видами осуществляется через стратегии воспроизведения, основанные на положительной обратной связи, при которых пионерные виды расселяются, производя на свет как можно больше потомства, но при этом практически не вкладываясь в успех каждого отдельного потомка (r-стратегия). В таких видах наблюдается стремительное развитие и столь же стремительный крах (например, через эпидемию). Когда экосистема приближается к климаксу, такие пионерные

виды заменяются более сложными климаксовыми видами, которые через отрицательную обратную связь адаптируются к специфическим условиям окружающей их среды. Эти виды тщательно контролируются потенциальной ёмкостью экосистемы и следуют иной стратегии – произведению на свет меньшего потомства, в репродуктивный успех которого в условиях микросреды его специфической экологической ниши вкладывается больше энергии (К-стратегия). Приведенный пример является хрестоматийным, поскольку кочует из одного источника в другой и представляет собой яркий образчик натуралистического описания экологического процесса, лишенного количественных критериев.

Попытки формализовать понятие устойчивости в экологии потребовали перехода от вербальных определений к более строгим математическим характеристикам. Так, устойчивость для экосистем и сообществ можно определить через сохранение числа видов, их количественных соотношений в данном сообществе и взаимосвязей в течение некоторого интервала времени для популяции – как отсутствие резких колебаний численности, способных привести популяцию к гибели. Однако, несмотря на кажущуюся интуитивную очевидность понятия «устойчивость», дать ему четкое и однозначное определение оказывается трудной задачей. Более того, по мнению некоторых исследователей, вообще не имеет смысла пытаться дать какое-либо исчерпывающее определение достаточно богатому по содержанию понятию: точное определение ограничивает рамки его применения, и это может оказаться вредным. В этом случае можно использовать ряд фрагментарных определений, касающихся лишь некоторых сторон этого понятия.

Теоретические разработки в этой области имеют качественно-интуитивный характер: таковы, например, концепции стабильности подвижных экологических систем или эластичности экологических систем. Суть этих представлений состоит в том, что существуют некоторые критические области, где возможно резкое (качественное) изменение состояния системы или ее динамического режима при небольших изменениях внутренней структуры или силы внешнего воздействия. Такие особенности вытекают из нелинейного характера взаимосвязей в экологических системах. Решение вопросов о пределах устойчивости конкретных популяций, или биоценозов, неизбежно связано с построением компьютерных имитационных моделей и соответственно с выбором тех характеристик системы, которые можно считать «существенными», носящими во многом субъективный характер. По-видимому, при решении подобных задач принципиально невозможно учесть все характеристики систем, и некоторые из неучтенных при построении модели параметров могут оказаться весьма важными в изменившейся среде. Таким образом, поиск границ устойчивости ведется в условиях, когда существует объективная неопределенность. Заметим, что это является еще одним свидетельством в пользу научной обоснованности сомнения в принципиальной способности человечества взять на себя все регуляторные функции. Кроме того, теоретические разработки показывают, что изменения поддающихся контролю параметров экологических систем в области, близкой к критической точке (точка

сингулярности), происходят медленно, и заметить переход через эту точку чрезвычайно трудно, а часто практически невозможно; быстрое же (заметное) изменение этих характеристик свидетельствует об уже начавшейся катастрофе, то есть «скачкообразном» переходе системы к другому состоянию (динамическому режиму), когда возвращение к исходному состоянию невозможно либо потребует принятия специальных мер.

Неопределенность границ устойчивости экологических систем, как уже отмечалось раньше, усугубляется изменчивостью условий среды, являющихся детерминантами экологических процессов. Существование этой неопределенности не означает абсолютной бесперспективности поиска каких-либо критериев экологического нормирования, оно свидетельствует лишь о том, что стратегия разработки экологических регламентов должна отличаться от той, которая принята, например, в гигиеническом нормировании. Во-первых, экологические нормы не являются абсолютно жесткими, и задача нормирования по сути сводится к поиску компромисса между требованиями держаться подальше от границы устойчивости экологической системы и получением максимально возможной продукции с учетом технологических возможностей того или иного вида хозяйственной деятельности. Во-вторых, экологические нормы должны быть ориентированы не на степень и качество конкретных видов воздействия на природные комплексы, а на реакцию биологических систем.

Таким образом, подходы к выработке экологических нормативов должны учитывать потенциально возможное существование различных состояний (стабильных, нестабильных) и различных типов динамики объектов нормирования. Основной задачей на первом этапе выступает определение допустимых изменений показателей динамики экологических систем различного ранга, превышение которых свидетельствует об опасном приближении к критическому состоянию. При этом выбор масштаба рассмотрения упомянутых показателей зависит от конкретной обстановки, однако правилом здесь должна быть минимизация риска катастрофического изменения экологической системы высшего ранга по отношению к объекту непосредственного, воздействия. Следует быть готовым к тому, что непосредственное приведение технологий в соответствие с экологическими нормами в каждом отдельном случае потребует проведения специальных исследований. Хотя задача экологического нормирования и кажется трудноразрешимой (об этом свидетельствует, в частности, приведенный выше пример воздействия промысла на популяцию животных), но не безнадежной. Здесь большую роль должны играть две важнейшие характеристики природных комплексов – их временная динамика и пространственная неоднородность.

Для обеспечения устойчивого функционирования экосистем, например водных, прежде всего необходимы адекватные показатели исходного экологического состояния водного объекта, или его нормативного состояния. Именно это может служить точкой отсчета для оценки степени негативного воздействия и расчетов допустимых антропогенных нагрузок. Одним из перспективных подходов является оценка экологического состояния водного

объекта по его трофическому статусу, поскольку последний интегрально отражает материальный, энергетический и кинетический баланс продукции и деструкции органического вещества. В качестве показателя, характеризующего состояние продукционно-деструкционного баланса, предложен «индекс трофического состояния» (index of trophical state, ITS)

$$ITS = \sum_{i=1}^{n} \frac{pH}{n} + \alpha(100 - \sum_{i=1}^{n} [O_2,\%]_i / n),$$

где pH – измеренное значение pH за время t; $[O_2,\%]$ – синхронно замеренная концентрация кислорода, %; a – эмпирический коэффициент; n – число измерений pH и $[O_2, \%]$ за время t. Показатель широко апробирован на многих водоемах России и Польши. На его основе разработана методология расчетов экологически допустимых концентраций (ЭДК) биогенных и некоторых других загрязняющих веществ для Невской губы и восточной части Финского залива Балтийского моря (Neverova-Dziopak, 2007; Цветкова и др., 2012).

16.3. ВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО НОРМИРОВАНИЯ

Общего понимания исторической обусловленности современного состояния природных объектов недостаточно для нормирования антропогенных нагрузок. Необходимы конкретные знания по истории экосистем и их компонентов для определения категории сукцессионной смены, происходящей в данной системе, и для прогноза трансформации естественной сукцессий в антропогенную. При этом необходимо учитывать ход сукцессии разного масштаба, различающихся движущими силами, глубиной преобразований и степенью обратимости, а также их хронологической протяженностью.

Процессы, происходящие в любом масштабе биологического времени, подразделяются на экосистемные и филогенетические. Первые связаны с преобразованиями в многовидовых сообществах и обусловлены главным образом реакцией сообществ и слагающих их видов на климатические изменения. Филогенетические процессы реализуются на популяционно-видовом уровне через преобразование генетического материала, хотя и они находятся в тесном взаимодействии с экологическими процессами. Как экосистемная, так и филогенетическая динамика биологических объектов может происходить в эволюционном, историческом, актуальном масштабах.

Актуальный масштаб характеризуется тем, что внутри него нет существенных различий между прошлым, настоящим и будущим состоянием. Для процессов, происходящих в данном масштабе, безоговорочно применим метод актуализма, с помощью которого можно на основе данных о процессах, протекающих сегодня, судить о прошлом. В популяциях и в экосистемах происходят динамические процессы в актуальном времени, но они либо имеют характер незначительных флуктуации, либо это периодические колебания

типа сезонных или погодовых, не образующих направленного устойчивого тренда, приводящего к качественным необратимым изменениям объекта. К таким процессам можно отнести популяционную динамику численности, хронографическую изменчивость морфофизиологических параметров популяций или межсукцессионные смены.

Динамика в актуальном масштабе для ряда объектов поддается прогнозированию с достаточно высокой точностью. Это относится к прогнозам динамики численности популяций хорошо изученных видов, продуктивности древесных растений (таблицы хода роста), к сукцессионным сменам небольшого масштаба. Все эти прогнозы ведутся с помощью методов, разработанных на основе принципов актуализма, т.е. в условиях, когда закономерности, вскрытые на современном материале, действуют и на всем изучаемом интервале времени и, разумеется, в пределах пространства, занятого изучаемым объектом. Для нормирования нагрузок с учетом динамики в актуальном масштабе применимы довольно простые соображения о возможных нарушениях хода естественных изменений и об их допустимости или недопустимости.

Для динамики в историческом масштабе характерны процессы, имеющие хорошо выраженную направленность. В филогенетических рядах это внутривидовые изменения межпопуляционного ранга, а в экосистемах – сукцессионные ряды, ведущие к образованию климаксовых сообществ. Хронологическая протяженность таких процессов охватывает столетия и тысячелетия. Динамика природных объектов в историческом масштабе на нынешнем уровне наших знаний предсказуема в очень редких случаях, когда мы ограничены объектами, имеющими настолько устойчивые тренды, что нет никаких сомнений в их сохранности на прогнозируемом отрезке времени. В остальных случаях возможны изменения направления динамики, которые предсказать крайне сложно, а это лишает возможности аргументированно учитывать влияние антропогенных воздействий на ход исторических изменений.

Эволюционный масштаб характерен для процессов смены видов путем филетических замещений или вымирания, не компенсированного появлением новых форм. В экосистемах он приводит к смене типов коренных сообществ и связан с глобальными изменениями климата на рубеже геологических отделов или систем. Продолжительность этих процессов – десятки и сотни тысяч лет. Динамика природных объектов в эволюционном масштабе принципиально непредсказуема, что заставляет вырабатывать общий подход к учету таких изменений при решении задач экологического нормирования в условиях неопределенного естественного развития систем. Рассмотрим его на двух примерах.

Предположим, что нам предстояло бы решать задачу экологического нормирования антропогенных нагрузок около десяти тысяч лет назад, в эпоху перехода от плейстоцена к голоцену, которая ознаменовалась коренной сменой климата и основных природных зон, что вызвало вымирание многих видов, включая мамонта, шерстистого носорога, пещерного медведя и т.д. Важно подчеркнуть, что вымирание этой группы видов было некомпенсированным, т. е. вместо них не возникало новых, которые заменили бы вымерших в таксономическом или в экологическом

отношении. Другие виды в этот период претерпевали серьезные экологические и морфологические изменения, превратившись в новые виды. Для двух указанных групп произошедшие события необходимо отнести к эволюционному масштабу. Третья группа видов преодолела этот рубеж с морфологическими изменениями на внутривидовом уровне и отреагировала на него сдвигом границ ареалов. Такие процессы характеризуются как исторические. Даже сейчас, когда нам известны результаты этих процессов, в основном невозможно достаточно обоснованно объяснить, почему те или иные виды оказались в каждой из трех указанных групп. Еще менее вероятен был бы правильный прогноз этих событий методом ретроспективного анализа, так как предыдущие смены ледниковых и межледниковых эпох не сопровождались кардинальными перестройками биоты, хотя изменения климата были аналогичными. Ясно, что в условиях непредсказуемого эволюционного и исторического процесса невозможно было бы определить меры по экологическому нормированию, которые смогли бы предотвратить неизбежное вымирание. Отсюда можно было бы сделать вывод о бесполезности попыток введения каких-либо норм воздействия в условиях объективно неизбежных природных динамических процессов. Однако это не так, что доказывает второй пример.

На протяжении голоцена границы природных зон меняли свое положение. В частности, территории, занятые ныне лесостепью, являются ареной, на которой происходит борьба между лесными и степными компонентами ландшафта, и этот процесс относится к категории исторической динамики. В ряде районов лесостепные участки оказались в окружении обширных лесных пространств, образуя своеобразные островные лесостепи, оторванные от зональной. Один из таких островов – Красноуфимская лесостепь – находится на западном склоне Среднего Урала. За последние полторы тысячи лет там исчезли популяции узкочерепных полевок и степных пищух – последних видов позвоночных животных, связанных со степными местообитаниями. Степные экосистемы представлены лишь комплексами степных видов растений и беспозвоночных. Естественное наступление лесных экосистем на степные усугубляется также распашкой и пастбищной нагрузкой на остатки степных островков, которые сохранились лишь в местах, не пригодных для пахоты.

В таких условиях нормирование антропогенной нагрузки может вестись по двум альтернативным вариантам. При первом можно исходить из исторической обреченности степных экосистем в этой островной лесостепи и нормировать деятельность, исходя из перспектив развития лесных сообществ. Во втором варианте нужно стараться сохранить оставшиеся степные участки, полностью снять с них антропогенный пресс или, по крайней мере, не усугублять естественного наступления на них лесных сообществ. Второй вариант может быть обоснован возможностью смены направления в соотношении леса и степи в пользу степных экосистем. Если это произойдет, то уникальный генофонд сохранившихся популяций степных видов быстро обеспечит восстановление угнетенных сообществ, и появятся предпосылки для восстановления утраченного биологического разнообразия степных компонентов данного лесостепного ландшафта. Действия на основе концепции исторической обреченности приведут к уничтожению последних степных островков в кратчайшие сроки, и в случае изменения

направления развития ландшафтов в сторону, неблагоприятную для леса, будет утрачена возможность поддерживать средообразующую функцию ландшафта за счет степных экосистем. Следовательно, предпочтительнее второй вариант, основанный на принципе, который можно назвать принципом «презумпции жизнеспособности».

Этот принцип означает, что нельзя считать любой биологический объект обреченным на вымирание до тех пор, пока он существует. Применение данного принципа в экологическом нормировании антропогенных нагрузок должно быть признано универсальным для динамических систем любого ранга – от популяционного до биосферного – в силу непредсказуемости их динамики. Еще одним основанием для применения принципа «презумпции жизнеспособности» может служить то обстоятельство, что социальные системы развиваются со скоростями, значительно превышающими темпы естественного развития экосистем. Развитие социальной организации общества и изменение технологий в промышленности и в сельском хозяйстве ведут к постоянной и все убыстряющейся смене форм и интенсивности антропогенных воздействий на природные комплексы. При общем усилении эксплуатации природных ресурсов, в ряде случаев она принимает такие формы, которые заменяют прямые воздействия на природные экосистемы на косвенные. Это позволяет выжить тем биологическим объектам, которые были бы обречены на вымирание при сохранении прежних технологий в производстве.

16.4. ПРОСТРАНСТВЕННАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Пространственная неоднородность биологических систем различного ранга – одна из наиболее существенных их характеристик. Тесная связь пространственной и временной организации природных объектов, существующая как природное свойство, при постановке задачи нормирования выступает как одно из условий ее решения. С другой стороны, именно пространственная неоднородность связана с рассматриваемым ниже понятием биологического разнообразия, а применительно к проблемам экологического нормирования служит основой для выбора уровня нормирования.

Пространственная компонента динамики экологических систем описывает перенос вещества и энергии с одних территорий на другие, как в результате естественных процессов, так и в качестве реакции на внешнее воздействие; этот перенос осуществляется не мгновенно, а с некоторым временным запаздыванием. Таким образом, более или менее полное представление о естественной динамике природных систем и их реакциях на антропогенные воздействия может дать только рассмотрение обеих компонент (временной и пространственной), их динамики в совокупности.

Одним из возможных направлений поиска решения проблемы ведения эффективной хозяйственной деятельности с минимальными нарушениями естественного баланса вещества и энергии является выбор пространственного масштаба воздействия. Иными словами, локальное возмущение может быть

велико, но пространственные связи в природных комплексах могут в определенной степени компенсировать их на уровне природных комплексов более крупного масштаба. Такие компенсаторные реакции являются частным случаем общего гемостатического принципа функционирования систем. Этими соображениями необходимо руководствоваться, например, при определении в агросистемах оптимального соотношения между площадями, занимаемыми пашней, многолетней травянистой растительностью и лесом. Естественно, что оптимальный характер взаимного расположения и чередуемости элементов природного комплекса зависит от многих факторов, в том числе, конечно, от климатических особенностей и рельефа местности.

Аналогично оказывается, что способность животных к расселению как один из зависимых от плотности механизмов регуляции численности позволяет вести промысел на ограниченной территории с большей интенсивностью без риска катастрофического снижения численности, если соблюдается определенное соотношение территорий, где промысел абсолютно запрещен, с территориями, где он ведется без каких-либо ограничений. При этом уровень заготовок может приближаться к тому, который потенциально достижим при «балансировании» интенсивности промысла на всей территории на границе устойчивости верхнего стабильного уровня численности. В данном случае целесообразно говорить о регламентации соотношения площадей «закрытой» и «открытой» для антропогенного воздействия частей единого ландшафтно-географического комплекса. При таком подходе выделение заповедных территорий представляется неотъемлемой и обязательной частью системы экологического нормирования.

Таким образом, обсуждение некоторых общих подходов к созданию системы экологического нормирования показывает, что своеобразие современного состояния этих проблем заключается, с одной стороны, в необходимости скорейшего внедрения в практику природопользования экологически обоснованных регламентов антропогенных нагрузок, с другой – в отсутствии необходимого для этого теоретического базиса и методологии.

При всей ценности опыта организации санитарно-гигиенического нормирования особенность биологических систем надорганизменного ранга требует разработки самостоятельной теории и методологии регламентации антропогенных нагрузок на природные комплексы. Все это ставит совершенно новые задачи, решение которых связано с объективными трудностями изучения фундаментальных закономерностей функционирования и устойчивости биологических систем различных уровней интеграции.

ЧАСТЬ IV

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ И КОНТРОЛЯ СОСТОЯНИЯ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

***Глава* 17. Методы оценки химического загрязнения атмосферного воздуха**

***Глава* 18. Методы оценки химического загрязнения поверхностных вод**

***Глава* 19. Методы определения класса опасности токсичных отходов производства и потребления**

***Глава* 20. Методы оценки химического загрязнения почв**

***Глава* 21. Методы оценки опасности и токсичности наноматериалов**

***Глава* 22. Методы оценки экологического риска**

ВВЕДЕНИЕ

Четвертая часть книги является логическим продолжением материалов, изложенных в предыдущей части и представляет собой адаптированные для учебного процесса материалы действующих нормативно-технических документов (НТД), посвященных организации и проведению экологического мониторинга в широком смысле. Существующие методы оценки химического загрязнения и контроля состояния объектов окружающей среды в своем большинстве основаны на концепции ПДК[38]. Эти методы в настоящее время играют исключительную роль в практической деятельности природоохранных структур различной ведомственной принадлежности и, поэтому, знакомство с ними необходимо в подготовке токсикологов. В тематическом плане эти методы охватывают вопросы загрязнения атмосферного воздуха, поверхностных вод, почв, установления класса опасности отходов производства и потребления, оценки потенциальной опасности нанотехнологий и продукции наноиндустрии, а также оценки экологического риска. Так же как и в третьей части, в данном случае мы сознательно излагали материал максимально близко к стилю и языку оригинала (практически цитируя), чтобы читатель погрузился в своеобразную стилистическую «атмосферу» современной НТД и скорее адаптировался к практическим действиям на рабочем месте. В то же время материал был подвергнут значительным сокращениям, продиктованным форматом и объемом книги.

[38] Исключением являются «Методические рекомендации по выполнению оценки качества среды по состоянию живых существ» (2003), разработанные специалистами Центра здоровья среды (Москва) под руководством чл.-корр. РАН В.М. Захарова, которые в этой книге не рассматриваются.

Глава 17

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА

Антропогенное загрязнение атмосферы является неизбежным следствием эксплуатации технологических установок и агрегатов в современном промышленном производстве. Под загрязнением атмосферы понимают изменение ее состава в результате наличия примесей. Вклад в загрязнение атмосферы вносят и природные процессы (так называемое естественное загрязнение атмосферы, например, в результате деятельности вулканов). В настоящей главе будут рассмотрены вопросы, касающиеся методов количественной оценки загрязнения атмосферного воздуха в результате поступления загрязняющих веществ (ЗВ) антропогенного происхождения. ЗВ – это примеси рассеянных в атмосфере веществ, не содержащихся в ее постоянном составе, которые могут оказать неблагоприятное влияние на здоровье людей и/или окружающую среду. В соответствии с российским законодательством все предприятия, имеющие потенциальную возможность выброса в атмосферу различных ЗВ, обязаны измерять их объемы, контролировать концентрацию и учитывать источники выделения. В случае если количество выбросов превышает допустимые значения – принимать меры для их уменьшения. Методы снижения уровня загрязняющих атмосферу веществ могут быть различными – от изменения режимов технологического процесса до использования нового оборудования. Самый доступный, распространенный и известный – это очистка выбросов, отводимых в атмосферу от стационарных источников. Как правило, для реализации этого метода используют газоочистные установки.

Основой регулирования качества атмосферного воздуха населенных мест являются гигиенические нормативы – предельно допустимые концентрации (ПДК) атмосферных загрязнений химических и биологических веществ. Соблюдение нормативов обеспечивает отсутствие прямого или косвенного влияния на здоровье населения и условия его проживания. Предельно допустимая концентрация примеси (ЗВ) в атмосфере – это максимальная ее концентрация, отнесенная к определенному времени осреднения, которая при периодическом воздействии или на протяжении всей жизни человека не оказывает на него вредного действия, включая отдаленные последствия, и на окружающую среду в целом.

Предотвращение появления запахов, раздражающего действия и рефлекторных реакций у населения, а также острого влияния на здоровье в период кратковременных подъемов концентраций обеспечивается соблюдением максимально разовых ПДК ($ПДК_{м.р.}$).

Предотвращение неблагоприятного влияния на здоровье населения при длительном поступлении атмосферных загрязнений в организм обеспечивается соблюдением среднесуточных ПДК ($ПДК_{с.с.}$).

Для обеспечения экологической безопасности населения и природной среды необходимо, чтобы количество выбрасываемого в атмосферу вещества в единицу времени (мощность выброса) источником загрязнения атмосферы не приводило к превышению ПДК этого соединения. С этой целью для каждого источника загрязнения устанавливается предельно допустимый выброс вредных веществ в атмосферу (ПДВ), при котором выбросы вредных веществ от данного источника и от совокупности источников города или другого населенного пункта, с учетом перспективы развития промышленных предприятий и рассеивания ЗВ в атмосфере, не создают приземную концентрацию (т.е. на высоте 1,5–2,5 м от поверхности земли), превышающую их ПДК для населения, растительного и животного мира. Поскольку в основе регламентирования ПДВ лежат санитарно–гигиенические нормативы (ПДК), направленные, в первую очередь, на охрану здоровья человека, в большинстве случаев установленные значения ПДК не обеспечивают защиты компонентов природной среды, например растительности (табл. 17.1).

Таблица 17.1

ПДК некоторых загрязняющих веществ в атмосферном воздухе для растений и человека, мг/м^3 (В.С. Николаевский, 1988)

Загрязняющее вещество	Растения в целом	Древесные породы	Человек*
Диоксид серы (SO_2)	0,02	0,03	0,5
Диоксид азота (NO_2)	0,02	0,04	0,085
Аммиак (NH_3)	0,05	0,1	0,2
Бензол	0,1	0,1	1,5
Хлор	0,25	0,025	0,1
Сероводород (H_2S)	0,02	0,008	0,008
Формальдегид	0,02	0,02	0,035
Пыль, цемент	–	0,2	0,5
Метанол	0,2	0,1	1,0

* Для человека приведены $ПДК_{м.р.}$

В настоящее время переход от санитарно-гигиенических принципов нормирования качества окружающей среды к экологическим находится в начальной стадии. Поэтому знание современных методических и нормативных подходов к количественной оценке загрязнения атмосферы (изложенных в действующей нормативно-технической документации (НТД)) является необходимым для специалистов-экологов.

При этом следует иметь в виду, что разные ведомства, отвечающие за охрану окружающей среды и здоровья человека, разрабатывают собственную НТД, требования которой иногда дублируют друг друга, а в некоторых случаях, как говорят специалисты, «не стыкуются». Во многом эти трудности обусловлены переходным периодом, в котором мы живем, но жизнь продолжается, и для того чтобы уверенно чувствовать себя в профессиональной среде, полезно ознакомиться с этими документами. В настоящей главе для студентов экологических и биологических специальностей изложены в адаптированной форме основные положения НТД, перечень которых дан в списке литературы.

17.1. КЛАССИФИКАЦИЯ ИСТОЧНИКОВ ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Степень загрязнения атмосферы зависит от количества выбросов вредных веществ и их химического состава, от высоты, на которой осуществляется выброс, от климатических условий, определяющих перенос, рассеивание и превращение выбрасываемых веществ. В выбросах предприятий различных отраслей промышленности и транспорта содержится большое число различных вредных примесей. Почти из всех источников в атмосферу поступают диоксид серы, пыль, оксид и диоксид углерода, оксиды азота (NO_x). При нарушении режима горения, т.е. при сжигании, например, газа в условиях недостаточного количества воздуха или при охлаждении пламени горелки, в атмосферу выбрасываются углеводороды, в том числе ароматические и полициклические, относящиеся к канцерогенным веществам.

Источником загрязнения атмосферы называется объект, распространяющий загрязняющие атмосферу вещества. Источники загрязнения можно подразделить на источники выделения и источники выброса ЗВ. Источник выделения ЗВ – объект (технологическая установка, агрегат, машина или технологический процесс), в котором возникают и из которого выделяются ЗВ, но не поступают на этой стадии в атмосферу. Источник выброса ЗВ – объект (устройство, механизм, установка), от которого ЗВ поступает в атмосферу. Как правило, организация выбросов ЗВ осуществляется по следующей схеме: источник выделения – установки очистки, обезвреживания, утилизации – источник выброса.

В зависимости от высоты (H, м) устья источника выброса ЗВ над уровнем земной поверхности выделяют следующие классы (ОНД-86):

а) высокие источники, $H \geq 50$ м;

б) источники средней высоты, $H = 10+50$ м;

в) низкие источники, $H = 2–10$ м;

г) наземные источники, $H \leq 2$ м.

В атмосферу ЗВ поступают из разных источников. При обтекании зон промышленных застроек ветром на объектах (зданиях) возникают плохо проветриваемые циркуляционные зоны (ветровые тени), которые ухудшают вынос и эффективность рассеивания ЗВ, обуславливая их повышенные концентрации в приземном слое. Геометрия здания (узкое, широкое, длинное, короткое, высокое, низкое) оказывает существенное влияние на формирование циркуляционных зон. При этом следует учитывать, что за ширину здания принимается сторона, перпендикулярная направлению ветра. Принципиальное аэродинамическое отличие коротких зданий от длинных заключается в том, что в процессе проветривания заветренной циркуляционной зоны существенную роль играют воздушные потоки с торцов зданий. При большой длине зданий этими потоками можно пренебречь, поэтому, чем меньше длина здания, тем эффективнее проявляется влияние этих потоков и тем меньше размеры заветренной циркуляционной зоны (ветровой тени). Для каждого здания при заданном направлении ветра различают три основных типа ветровых теней: подветренную, на крыше и наветренную (зону подпора).

Различают точечные, линейные и плоские (площадные) источники загрязнений. Точечным называется источник, выбрасывающий ЗВ в атмосферу из установленного отверстия. Точеные источники (трубы, шахты, факелы, вентиляторы и т.д.) выделяют ЗВ в точках, расположенных так, что наложение областей распространения примесей в циркуляционной зоне за отдельно стоящим зданием или в пределах межкорпусного пространства отсутствует.

Линейным является источник, выбрасывающий ЗВ в атмосферу по установленной линии. Линейные источники имеют значительную протяженность в направлении, перпендикулярном ветру (аэрационные фонари, открытые оконные проемы, технологические линии и т.д.) и расположены, как правило, в наветренной циркуляционной зоне. Точечные источники, области распространения примесей, которые налагаются друг на друга в пределах примыкающей к зданию половины заветренной циркуляционной зоны, также относят к линейным источникам. Принципиальным отличием линейных источников от точечных является практически постоянная концентрация ЗВ в любой точке приземного слоя; напротив, при действии точечных источников распространения примесей концентрация изменяется, ее максимум отмечается по оси факела.

Плоским или площадным называется источник, выбрасывающий ЗВ в атмосферу с установленной поверхности.

По времени действия источники выбросов подразделяют на непрерывные и периодические. Непрерывным называется источник, выбрасывающий в атмосферу ЗВ непрерывно в течение длительного периода времени. Именно источники непрерывного выброса ЗВ вносят основной вклад в загрязнение промплощадок и прилегающей территории при нормальном функционировании объектов. Под действием подъемной силы выбрасываемые такими источниками ЗВ поднимаются над их устьем на некоторую высоту, вследствие чего фактическое место изгиба факела распространения загрязнения под действием аэродинамических сил набегающего потока воздуха (ветра) у неизотермических (горячих) выбросов с температурой газовоздушной смеси $\geq 50°C$ располагается выше, чем у аналогичных изотермических (холодных $\leq 50°C$). Следовательно, и зона распространения ЗВ в первом случае будет больше.

По степени подвижности различают стационарные и подвижные источники выбросов. Стационарные – это источники, которые в процессе образования, выделения и выброса ЗВ не изменяют своих координат в пространстве. Подвижные источники меняют свое местонахождение с течением времени, например автотранспорт.

По степени оснащенности средствами защиты атмосферы источники выбросов делятся на оснащенные и неоснащенные. Первые имеют средства защиты атмосферы от выбросов ЗВ в виде установок и аппаратов газоочистки и пылеулавливания. Вторые – выбрасывают ЗВ в атмосферу без очистки. Целью санитарной очистки отходящих газов является очистка газа от остаточного содержания в газе ЗВ, при котором обеспечивается соблюдение установленных для этих веществ ПДК в воздухе населенных мест или производственных помещений. При промышленной очистке газа целью является утилизация или возврат в производство отделенного от газа или превращенного в безвредное состояние продукта.

По характеру действия различают организованные и неорганизованные промышленные выбросы. Организованный – это промышленный выброс, поступающий в атмосферу через специально сооруженные газоходы, воздуховоды, трубы. Неорганизованные промышленные выбросы поступают в атмосферу в виде ненаправленных потоков газа в результате нарушения герметичности оборудования, отсутствия или неудовлетворительной работы оборудования по отсосу газа в местах загрузки, выгрузки или хранения продукта.

17.2. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ПРИЗЕМНЫХ СЛОЯХ АТМОСФЕРЫ

При постоянных параметрах выбросов уровень загрязнения атмосферы существенно зависит от климатических условий: направления, условий переносов и распространения примесей в атмосфере, интенсивности солнечной радиации, определяющей фотохимические превращения примесей и возникновение вторичных продуктов загрязнения воздуха, количества и продолжительности атмосферных осадков, приводящих к вымыванию примесей из атмосферы, а также при образовании облаков и туманов.

Рассеивание, или диффузия ЗВ, выделяемых различными источниками, происходит под влиянием турбулентности, свойственной приземному слою атмосферы. Благодаря турбулентности различные слои воздуха интенсивно перемешиваются во всех направлениях, одновременно снижая концентрацию ЗВ. Основным метеорологическим элементом, осуществляющим рассеивание ЗВ, является движение воздуха (ветер). Приземной слой атмосферы характеризуется значительными изменениями с высотой скорости ветра, температуры, турбулентности. Скорость ветра возрастает с перепадом атмосферного давления. Наиболее высокие скорости ветра наблюдаются зимой, когда горизонтальный и вертикальный градиенты давления и температурный градиент самые большие.

В приземном слое весьма часто проявляется влияние на устойчивость атмосферы температурной стратификации. Атмосфера является термодинамической системой, в которой вертикальное перемещение масс воздуха, при определенных условиях, может рассматриваться как адиабатический процесс. При этом любая масса воздуха, поднимающаяся вверх, будет охлаждаться вследствие уменьшения давления и увеличения ее объема, а опускающаяся – нагреваться. Градиент температуры при этом называется сухоадиабатическим и составляет ≈1°С на каждые 100 м вертикального слоя воздуха.

В реальных условиях распределение температуры в массе воздуха не всегда подчиняется сухоадиабатическому процессу.

Исходя из понятия сухоадиабатического процесса и фактического изменения температуры воздуха по вертикали, различают три типичных состояния устойчивости (равновесия) атмосферы: безразличное, устойчивое и неустойчивое. При безразличном равновесии вертикальный градиент температуры по величине равен сухоадиабатическому. При этом каждый элементарный объем воздуха при изменении своего положения будет иметь ту же температуру и плотность, что и окружающая его атмосфера. Поэтому, будучи выведенным из состояния покоя, он не будет стремиться ни двигаться дальше, ни вернуться в прежнее положение.

При неустойчивом состоянии атмосферы вертикальный градиент температуры превышает сухоадиабатический. В этом случае каждый опускающийся объем воздуха будет тяжелее и холоднее окружающей среды и поэтому будет стремиться продолжить свое движение, при этом создаются условия для интенсивного турбулентного обмена. Чаще всего неустойчивое состояние атмосферы наблюдается летом в дневное время. В этих условиях отмечаются значительные колебания концентраций ЗВ со временем.

При устойчивом равновесии вертикальный градиент температуры меньше сухоадиабатического. При этом объем воздуха стремится вернуться к своему начальному положению, что особенно неблагоприятно для рассеивания ЗВ.

Одной из важных характеристик погоды является инверсия, т.е. состояние атмосферы, при котором температура увеличивается с высотой. Такая вертикальная стратификация препятствует развитию турбулентности и ограничивает зону атмосферного перемешивания. Вблизи поверхности земли воздушный поток обычно направляется от центра области высокого давления к областям низкого давления. Это движение компенсируется опусканием воздуха внутри области высокого давления, при этом температура в его верхней части растет быстрее, чем в нижней. Такой опускающийся слой воздуха обычно не достигает поверхности земли и формирует приподнятую инверсию, или инверсию оседания. В подобных случаях приземные концентрации зависят от высоты расположения источника загрязнения по отношению к нижней границе приподнятой инверсии. Если источник расположен выше слоя приподнятой инверсии, то примесь поступает к земной поверхности в небольших количествах, если ниже, то основная часть примеси концентрируется вблизи поверхности земли.

Другим типом инверсии является радиационная приземная инверсия, образующаяся в областях повышенного давления. Приземная инверсия возникает обычно ночью при безоблачном небе и слабом ветре. Главное различие между этими двумя видами инверсий заключается в том, что приземная инверсия зависит от времени суток, характера поверхности и местного облачного покрова, в то время как приподнятая инверсия определяется только крупномасштабными нисходящими движениями воздушных масс.

Влияние метеоусловий проявляется по-разному при холодных и горячих выбросах из высоких и низких труб. Концентрации примеси в приземном слое атмосферы под факелом дымовых и вентиляционных труб распределяются следующим образом. Вблизи источника при отсутствии низких, и особенно неорганизованных, выбросов концентрация примеси мала. Она увеличивается и достигает максимума на некотором расстоянии от трубы. Максимум и характер изменения концентрации с расстоянием зависят от мощности выброса, высоты трубы, температуры и скорости выбрасываемых газов, а также от метеоусловий. Чем выше источник выбросов, тем больше рассеивается примесь в атмосфере, прежде чем достигнет подстилающей поверхности. Наибольшего значения концентрация обычно достигает на расстоянии 10–40 высот труб. Поэтому опасные для здоровья человека концентрации ЗВ от таких источников, например, 20 высот труб, будут наблюдаться на площади 10–100 км^2. Однако для хвойных лесов, чувствительность которых к загрязнению атмосферы

в несколько раз выше, чем у человека, площадь поражения растительности при этих же условиях может достигать 100–1000 км^2.

Следует подчеркнуть, что на промплощадке загрязнение приземного слоя может быть повышенным за счет неорганизованных выбросов.

Скорость ветра способствует переносу и рассеиванию примесей за счет возрастания перемешивания воздушных слоев. При слабом ветре в районе высоких источников выброса концентрация у земли уменьшается за счет увеличения подъема факела и уноса примеси вверх. Подъем примеси особенно значителен при нагретых выбросах. При сильном ветре начальный подъем примеси уменьшается, но происходит возрастание скорости переноса примеси на значительные расстояния. Скорость ветра на установленной высоте, при которой приземная концентрация от источника примеси достигает максимального значения, называется опасной. Опасная скорость ветра зависит от параметров выброса. Для мощных источников выбросов (ТЭЦ, металлургических и химических заводов) с большим перегревом дымовых газов относительно окружающего воздуха она составляет 5–7 м/с. Для источников со сравнительно малым объемом выбросов и низкой температурой газов, например котельных, она составляет 1–2 м/с. Неустойчивость направления ветра способствует усилению рассеивания по горизонтали и снижению приземных концентраций примесей.

Солнечная радиация обуславливает фотохимические реакции в атмосфере и образование вторичных продуктов, обладающих часто более токсичными свойствами, чем сами примеси. В результате фотохимического эффекта в ясные солнечные дни в загрязненном воздухе формируется фотохимический смог.

При туманах концентрация примесей может значительно увеличиться. С туманами связаны влажные смоги, при которых в течение продолжительного времени удерживаются высокие концентрации вредных примесей.

На распространение примесей влияют также упорядоченные вертикальные перемещения воздуха, обусловленные неоднородностью подстилающей поверхности. В условиях пересеченной местности на наветренных склонах возникают восходящие, а на подветренных – нисходящие потоки воздуха. При нисходящих потоках приземные концентрации увеличиваются, при восходящих – уменьшаются. Большую роль играют водные поверхности. Так, летом над водоемами образуются восходящие потоки, а в прибрежных районах – нисходящие. В некоторых формах рельефа, например в котловинах, воздух застаивается, что приводит к накоплению ЗВ, особенно при низких источниках выбросов. В холмистой местности максимумы приземной концентрации примесей обычно выше, чем при отсутствии неровностей рельефа.

На рассеивание примесей в условиях города существенное влияние оказывает планировка улиц, их ширина, направление, высота зданий, наличие зеленых массивов и водных объектов, образующих как бы разные формы наземных препятствий воздушному потоку и приводящих к возникновению особых метеоусловий в городе.

Наблюдения показывают, что даже при постоянных объемах и составах промышленных и транспортных выбросов в результате влияния метеоусловий уровни загрязнения могут различаться в несколько раз.

Так, если поднимающийся воздух достаточно влажен и успевает охладиться до точки росы, то восходящие потоки могут привести к образованию конвективных (кучевых) облаков. По высоте вершин кучевых облаков можно оценить высоту верхней границы слоя перемешивания. ЗВ, выпущенное у поверхности земли при неустойчивой стратификации, обычно быстро распространяется и рассеивается в горизонтальном и вертикальном направлениях. Вертикальное перемешивание прекращается лишь при достижении верхней границы перемешивающегося слоя. Если граница перемешивания удерживается на низкой высоте (низкая облачность), а горизонтальные движения воздуха слабы, то возникает возможность сильного загрязнения воздуха. ЗВ, выпущенное из трубы в условиях приземной инверсии, будет подниматься до тех пор, пока его начальная плавучесть и инерция вертикального подъема не исчерпаются, затем происходит только его дрейф по воздушному потоку в виде тонкой, почти не возмущенной ленты. Такие ленты, испускаемые трубами, простираются на десятки километров в ночное время. С восходом солнца турбулентность усиливается, и тонкие струи разрушаются обычно не более чем за 2 часа после восхода. Если во время ночной приземной инверсии разовьется туман, то утреннее разрушение инверсии может значительно задержаться.

Визуальную оценку типизации метеоусловий, в первом приближении, можно делать по форме струи дыма, вытекающего из трубы. Так, например, приподнятая, срезанная снизу форма струи дыма рассматривается как наиболее благоприятная для рассеивания ЗВ (обычно наблюдается ночью в течение 1–3 часов). Напротив, задымляющая, срезанная сверху форма струи, при которой падение температуры воздуха начинается вблизи земли и распространяется на некоторую высоту (зимой – сильнее, летом – слабее) соответствует наибольшей загрязненности воздуха.

17.3. ОРГАНИЗАЦИЯ НАБЛЮДЕНИЙ ЗА УРОВНЕМ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРЫ

Для наблюдения за уровнем загрязнения атмосферы организуются посты. Пост – это точка местности, на которой размещают павильон или автомобиль, оборудованный соответствующими приборами.

Устанавливаются три категории постов наблюдений за состоянием атмосферы: стационарный, маршрутный, передвижной (подфакельный). Стационарный пост предназначен для обеспечения непрерывной регистрации содержания ЗВ или регулярного отбора проб воздуха для последующего анализа. Из числа стационарных постов выделяются опорные стационарные посты, предназначенные для выявления долговременных изменений основных[39] и наиболее распространенных ЗВ. Маршрутный пост предназначен для регу-

[39] К основным ЗВ относятся пыль (взвешенные вещества), диоксид серы, диоксид и оксид азота, оксид углерода.

лярного отбора проб в фиксированной точке местности при наблюдениях, которые проводятся с помощью передвижного оборудованию. Передвижной (подфакельный) пост предназначен для отбора проб под дымовым (газовым) факелом с целью выявления зоны влияния данного источника.

Репрезентативность наблюдений за состоянием загрязнения атмосферы в городе зависит от правильности расположения поста на обследуемой территории. Стационарный и маршрутный посты размещают в местах, выбранных на основе обязательного предварительного исследования загрязнения воздушной среды города промышленными выбросами, выбросами автотранспорта, бытовыми и другими источниками и изучения метеоусловий рассеивания примесей. При этом следует учитывать повторяемость направлений ветра над территорией города. К числу наиболее загрязненных районов относятся зоны наибольших максимальных разовых и среднесуточных концентраций, создаваемых промышленными предприятиями (такие зоны находятся в 0,5–2 км от низких источников выбросов и 2–3 км от высоких), а также магистрали интенсивного движения транспорта, поскольку влияние автотранспорта обнаруживается на расстояниях 50–100 м от магистрали.

Число стационарных постов определяется в зависимости от численности населения в городе, площади населенного пункта, рельефа местности, степени индустриализации, рассредоточенности мест отдыха. В зависимости от численности населения устанавливается следующее количество постов (табл. 17.2).

Таблица 17.2

Число стационарных и маршрутных постов в населенных пунктах

Численность населения, тыс. чел.	Число стационарных и маршрутных постов
< 50	1
50–100	2
100–200	2–3
200–500	3–5
> 500	5–10*
> 1000	10–20*

* В том числе маршрутных.

При подфакельных наблюдениях, т.е. измерениях концентраций примесей под осью факела выбросов из труб, места отбора проб выбирают с учетом ожидаемых наибольших концентраций примесей на расстояниях 0,5; 1; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 15 и 30 км от границы санитарно-защитной зоны и конкретного источника загрязнения с подветренной стороны от него. Данные наблюдений на близких расстояниях от источника (0,5 км) характеризуют загрязнение атмосферы низкими источниками и неорганизованными выбросами, а на дальних – сумму от неорганизованных низких и высоких выбросов. Чаще следует проводить наблюдения на расстоянии 10–40 средних высот труб от источника, где особенно велика вероятность появления максимума концентраций. При выполнении подфакельных наблюдений существенной частью работы является установление направления факела и выбор точек отбора проб. Направление факела опре-

деляется визуальным наблюдением за очертаниями дыма. Если дымовое облако отсутствует, то направление факела определяется по направлению ветра на высоте выброса (по данным шаропилотных наблюдений), по запаху специфических веществ, по видимым факелам близлежащих источников.

Отбор проб на постах осуществляется на высоте 1,5–3,5 м от поверхности земли по соответствующей программе наблюдений.

Полная программа наблюдений предназначена для получения информации о разовых и среднесуточных концентрациях. Наблюдения по полной программе выполняются ежедневно путем непрерывной регистрации с помощью автоматических устройств или дискретно при обязательном отборе в 1; 7; 13 и 19 часов по местному декретному времени.

При неполной программе наблюдения ведутся с целью получения информации о разовых концентрациях ежедневно в 7; 13 и 19 часов по местному декретному времени.

По сокращенной программе наблюдения проводятся ежедневно в 7 и 13 часов местного декретного времени.

Программа суточного отбора проб предназначена для получения информации о среднесуточной концентрации путем непрерывного суточного отбора проб.

Все программы наблюдений позволяют получать концентрации среднемесячные, среднегодовые и средние за более длительный период.

С учетом вышеизложенного по данным наблюдений о загрязнении атмосферы определяют следующие величины (РД 52.04.186–89):

Разовая концентрация примеси (q_i), измеренная путем отбора проб за период 20–30 мин.

Среднесуточная концентрация примеси ($\overline{q}_c$), за которую принимают среднее арифметическое значений разовых концентраций, полученных через равные промежутки времени, включая обязательные сроки 1; 7; 13; 19 часов, а также по данным непрерывной регистрации в течение суток:

$$\overline{q}_{\text{с}} = 1/n\sum_{i=1}^{n} q_i\,, \qquad (17.1)$$

где n – число разовых концентраций, измеренных за 1 сутки.

Среднемесячная концентрация примеси ($\overline{q}_{\text{мес}}$), за которую принимают среднее арифметическое разовых (q_i) или среднесуточных (q_c) концентраций, измеренных в течение месяца:

$$\overline{q}_{\text{мес}} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} q_i\,, \qquad (17.2)$$

где n –число разовых или среднесуточных концентраций, полученных в течении j-го месяца ($n \geq 20$ в месяц для разовых).

Среднегодовая концентрация примеси ($\overline{q}_{\text{г}}$), за которую принимают среднее арифметическое (средневзвешенное) разовых или среднесуточных концентраций, измеренных в течение года

$$\overline{q}_{\text{г}} = \frac{\sum_{j=1}^{n}(q_j n_j)}{\sum_{j=1}^{n} n_j}, \qquad (17.3)$$

где n – число разовых или среднесуточных концентраций, за год ($n \geq 200$ для разовых), q_j – среднемесячная концентрация за j-й месяц.

Среднегодовая концентрация примеси по данным подфакельных наблюдений ($\overline{q}_{\text{пфн}}$), расчетная величина, полученная на основе предположения логнормального распределения q_i по данным подфакельных наблюдений

$$\overline{q}_{\text{пфн}} = \Pi_z \cdot P_d \cdot q_{\text{м}} \cdot N / 2\pi, \qquad (17.4)$$

где Π_z – потенциал загрязнения атмосферы (ПЗА); $q_{\text{м}}$ – максимальная концентрация, отмеченная при d-м направлении ветра; P_d – повторяемость d-го направления ветра, N – число направлений ветра, которые учитываются при расчете P_d.

Под ПЗА понимают сочетание метеорологических фактов, обуславливающих уровень возможного загрязнения атмосферы от источников в данном географическом районе (табл. 17.3). Численные значения Π_z приведены в справочной литературе (см. РД 54.04.186-89).

Таблица 17.3

Определение ПЗА по среднегодовым значениям метеорологических параметров

Потенциал загрязнения атмосферы (ПЗА)	Приземные инверсии			Повторяемость, %		Высота слоя перемещения, км	Продолжительность тумана, ч
	Повторяемость, %	Мощность, км	Интенсивность, °С	Скорость ветра 0–1 м/с	В том числе непрерывно подряд дней застоя воздуха		
Низкий	20–30	0,3–0,4	2–3	10–20	5–10	0,7–0,8	80–350
Умеренный	30–40	0,4–0,5	3–5	20–30	7–12	0,8–1,0	100–550
Повышенный:							
континентальный	30–45	0,3–0,6	2–6	20–40	3–18	0,7–1,0	100–600
приморский	30–45	0,3–0,7	2–6	10–30	10–25	0,4–1,1	100–600
Высокий	40–60	0,3–0,7	3–6	30–60	10–30	0,7–1,6	50–200
Очень высокий	40–60	0,3–0,9	3–10	50–70	20–45	0,8–1,6	10–600

17.4. ХАРАКТЕРИСТИКИ СОСТОЯНИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРЫ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ

В атмосферный воздух городов и других населенных мест поступает большое количество ЗВ как основных, так и специфических, выбрасываемых отдельными предприятиями, производствами, цехами. Перечень веществ для измерения на стационарных, маршрутных постах и при подфакельных наблюдениях устанавливается на основе сведений о составе и характере выбросов от источников загрязнения и метеоусловий рассеивания примесей. С этой целью определяются вещества, выбрасываемые предприятиями города, и оценивается возможность превышения ПДК этих веществ. В результате составляется список веществ, подлежащих контролю в первую очередь. Принцип выбора приоритетных ЗВ для включения в список основан на использовании параметра потребления воздуха (ПВ) (РД 52.04.186–89) и критерия опасности i-го ЗВ ($КОВ_i$) (ОНД-90). При использовании ПВ оценивается реальный $ПВ_i$, и требуемый $ПВ_{Т_i}$.

$$ПВ_i = \frac{M_i}{q_i}, \quad ПВ_{Т_i} = \frac{M_i}{ПДК_i}, \qquad (17.5)$$

где M_i – суммарное количество выбросов i-й примеси от всех источников, расположенных на территории города, т/год; q_i – концентрация, установленная по данным наблюдений или расчетов, мг/м^3. Оценивается, будет ли средняя или максимальная концентрация примеси при данных выбросах превышать, соответственно, $ПДК_{м.р.}$ и $ПДК_{с.с.}$. Если $ПВ_{Т_i} > ПВ_i$, то ожидаемая концентрация примеси в воздухе может быть равна ПДК или превысит ее и, следовательно, i–я примесь должна контролироваться. Перечень веществ для организации наблюдений устанавливается сравнением $ПВ_i$ с $ПВ_Т$ для средних ($ПВ_{с.с.}$) и максимальных ($ПВ_{м.р.}$) концентраций примеси[40].

Критерий опасности i-го ЗВ ($КОВ_i$) определяется по формуле:

$$КОВ_i = \left(\frac{M_i}{ПДК_{с.с._i}} \right)^{\alpha_i}, \qquad (17.6)$$

где M_i – суммарный выброс i-го ЗВ на контролируемой территории (город, район, область и т. д.), т/год, $ПДК_{с.с.i}$ – среднесуточная предельно допустимая концентрация i-го ЗВ, мг/м^3; α_i – постоянная, учитывающая класс опасности i-го ЗВ. Значения $ПДК_{с.с.}$ и класс опасности конкретного ЗВ устанавливаются по НТД. Значения α_i, приведены в табл. 17.4.

[40] Подробно методика изложена в РД 52.04.186-89.

Таблица 17.4

Значения α_i для загрязняющих веществ различных классов опасности

Класс опасности ЗВ	1-й чрезвычайно опасные	2-й высоко-опасные	3-й умеренно опасные	4-й мало-опасные
Значения α_i	1,7	1,3	1,0	0,9

Применением формулы (17.6) фактически производится приведение параметров опасности *i*-го ЗВ к веществам 3-го класса опасности (например, диоксида серы) для получения сопоставимых результатов.

Исходя из полученных значений $КОВ_i$, определяют категорию опасности ЗВ на контролируемой территории в соответствии с табл. 17.5.

Таблица 17.5

Категории опасности загрязняющих веществ

Категория опасности	1	2	3
$КОВ_i$	$\geq 10^5$	10^5–10^3	$<10^3$

При составлении перечня наиболее опасных ЗВ на контролируемой территории исходят из следующих приоритетов[41]:

1. Основные ЗВ (CO, NO, NO_2, SO_2, пыль).
2. Вещества 1-й категории опасности (при их отсутствии – 2-й категории).
3. Вещества, для которых на контролируемой территории зарегистрирована концентрация >5 ПДК.

Полученные значения $КОВ_j$ и соответствующие категории опасности используют для целей **государственного контроля** за предприятиями, действующими на данной территории.

При **производственном контроле** источников загрязнения, находящихся на территории предприятия (труб, аэрационных фонарей, и т.д.), их разделяют на 1-ю и 2-ю категории, используя максимально разовую концентрацию ЗВ при неблагоприятных метеоусловиях ($c_м$), рассчитанную в соответствии с требованиями ОНД-86.

К 1-й категории относятся источники выбросов ЗВ, для которых

$$\frac{c_м}{ПДК_{м.р.}} > 0,5, \qquad (17.7)$$

при условии выполнения неравенства

$$\frac{M}{\left(ПДК_{м.р.} \cdot H\right)} > 0,01 \ , \qquad (17.8)$$

а также источники, на которых установлена пылегазоочистная аппаратура с КПД > 75% при одновременном выполнении для них условий

[41] Подробно методика изложена в ОНД-90.

$$\left(\frac{c_{\text{м}}}{\text{ПДК}_{\text{м.р.}}}\right)\left[\frac{100}{100-\text{КПД}}\right] > 0{,}5; \qquad (17.9)$$

$$\left(\frac{M}{\text{ПДК}_{\text{м.р.}} \cdot H}\right)\left[\frac{100}{100-\text{КПД}}\right] > 0{,}01, \qquad (17.10)$$

где M – максимальный массовый выброс ЗВ из источника, г/с; H – высота источника, м; КПД – коэффициент полезного действия пылегазоочистного оборудования, %. При $H < 10$ м левая часть неравенства (17.10) вычисляется для $H = 10$ м.

Кроме вышеназванных показателей, характеризующих состояние загрязнения атмосферного воздуха населенных мест, используют единичные и комплексные индексы загрязнения атмосферы, основанные на данных инструментальных наблюдений за концентрацией ЗВ в атмосфере (РД 52.04.186–89). Результаты многих исследований показали, что данные измерений концентраций примесей в приземном слое атмосферы города с достаточной точностью соответствует логарифмически нормальному распределению. По ряду наблюдений проверяют гипотезу о том, что результаты наблюдений относятся к логнормальному распределению и вычисляют его показатели, а также значения максимальной концентрации с заданной вероятностью превышения в 5; 1 и 0,1% случаев:

$$q_{м}^{p} = \frac{\overline{q} \cdot \exp z \cdot \sqrt{\ln\left(1+\nu^2\right)}}{\sqrt{1+\nu^2}}, \qquad (17.11)$$

где $p = 0{,}1\%$ при $z = 3{,}08$; $p = 1\%$ при $z = 2{,}3$; $p = 5\%$ при $z = 1{,}65$; $\overline{q}$ – средняя концентрация, ν – коэффициент вариации ($\nu = \frac{\sigma}{\overline{q}}$); где σ – среднеквадратичное отклонение.

Основным критерием качества атмосферного воздуха являются ПДК, утвержденные в установленном порядке. Поэтому для оценки состояния или степени загрязнения атмосферы используются единичные осредненные и разовые показатели загрязнения атмосферы, которые при нормировании на ПДК называются единичными индексами загрязнения атмосферы (ИЗА). Устанавливают, выполняются ли соотношения:

$$q_i / \text{ПДК}_{\text{м.р.}} < 1,\ \overline{q}_i / \text{ПДК}_{\text{с.с.}} < 1, \qquad (17.12)$$

где q_i – разовая концентрация примеси, $\overline{q}$ – среднесуточная концентрация примеси.

На основании проверки соотношения (17.12) рассчитывают число случаев (m) или повторяемость (g) концентраций, превышающих ПДК:

$$g = \frac{m_i}{n} \cdot 100, \qquad (17.13)$$

где n – число наблюдений за рассматриваемый период времени; m – число случаев превышения разовыми концентрациями (q_i) уровня α·ПДК, при α, равном соответственно 1, 5, и 10, а i = 1, 2, 3.

Рассчитывают индекс загрязнения атмосферы (I_i) отдельной примесью с учетом скорости возрастания степени вредности веществ, приведенной к вредности (опасности) диоксида серы, по мере увеличения превышения ПДК:

$$I_i = \left(\frac{\overline{q}_{\text{г}}}{\text{ПДК}_{\text{с.с.}}} \right)^{c_i}, \qquad (17.14)$$

где i – примесь, c_i – константа, позволяющая привести степень вредности i-го вещества к степени вредности диоксида серы (см. табл. 17.4 при $c_i = \alpha_i$); $\overline{q}_{\text{г}}$ – среднегодовая концентрация примеси (см. формулу (17.3)); $\text{ПДК}_{\text{с.с.}}$ – среднесуточная ПДК.

Для сравнения степени загрязнения атмосферы в разных городах используется комплексный ИЗА – безразмерная функция характеристик степени загрязнения атмосферы несколькими веществами. Комплексный ИЗА, учитывающий l веществ, присутствующих в атмосфере, рассчитывается по формуле

$$I_i = \sum_{i=1}^{l} I_i = \sum_{i=1}^{l} \left(\frac{\overline{q}_i}{\text{ПДК}_{\text{с.с.}}} \right)^{c_i}, \qquad (17.15)$$

где $\overline{q}_i$ – осредненная по времени (месяц, год), рассчитанная для города или группы городов концентрация i-й примеси, c_i – безразмерная константа, позволяющая привести степень вредности i-го вещества к вредности диоксида серы. Расчет ИЗА основан на предположении, что на уровне ПДК все вредные вещества характеризуются одинаковым влиянием на человека (принцип изоэффективности), а при дальнейшем увеличении концентрации степень их вредности возрастает с различной скоростью, которая зависит от класса опасности вещества (см. табл. 17.4). На основе значений I_i (т.е. для отдельной примеси) составляют убывающий вариационный ряд.

Анализ данных наблюдений за загрязнением атмосферы в городах России показывает, что имеются 4–5 примесей, которые вносят основной вклад в создание высокого уровня загрязнения, поэтому принимается l = 5. Пример расчета ИЗА_5 дан в табл. 17.6. В таблице значения ИЗА с 5 наибольшими значениями выделены жирным шрифтом и по их суммарному значению дана величина ИЗА_5.

Таблица 17.6

Пример расчета ИЗА$_5$
по данным о средних концентрациях примесей

Примесь	Значение I_l
Взвешенные вещества	**1,08**
SO_2	0,12
NO_2	**1,69**
NO	0,56
CO	0,94
Формальдегид	**1,57**
Бенз(а)пирен	**3,50**
Аммиак	**1,03**
ИЗА$_5$	**8,87**

В некоторых случаях концентрация загрязняющего вещества в атмосфере не достигает ПДК, при этом ($\overline{q}_i$ / ПДК < 1), что почти не влияет на величину комплексного ИЗА и, следовательно, мало влияет на здоровье. При возведении в степень c_i значения ($\overline{q}_i$ / ПДК) становятся малой величиной и при расчете $I(m)$ не играют существенной роли. В этом случае можно принять $I = 0$.

Степень загрязнения атмосферы по ИЗА$_5$ определяется с помощью данных, приведенных в табл. 17.7.

Таблица 17.7

Оценка степени загрязнения атмосферы по ИЗА

Градация	Степень загрязнения атмосферы	ИЗА$_5$
I	Низкая	0–4
II	Повышенная	5–6
III	Высокая	7–13
IV	Очень высокая	>14

Для каждого города рассчитывается комплексный ИЗА$_5$, учитывающий 5 приоритетных веществ в этом ряду. Пример динамики ИЗА$_5$ для городов Нижегородской области приведен на рисунке 17.1.

Рис. 17.1. Изменение уровня загрязнения атмосферы по комплексному показателю ИЗА$_5$ в городах Нижегородской области за 2006–2010 годы

17.5. ПРИМЕР РАСЧЕТА КОНЦЕНТРАЦИЙ ВРЕДНЫХ ВЕЩЕСТВ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ

Исходные данные. Котельная, расположенная на ровной открытой поверхности в Новосибирской обл. Объект имеет 1 дымовую трубу высотой (H) 35 м с диаметром (D) устья 1,4 м. Скорость выхода газовоздушной смеси (w_0) составляет 7 м/с, температура смеси ($T_г$) – 125°С, температура окружающего воздуха ($T_в$) – 25°С. Выбросы загрязняющих веществ в атмосферу составляют:

диоксид серы, M_{SO_2}	–	12 г/с;
оксиды азота (в пересчете на диоксид азота), M_{NO_2}	–	0,2 г/с;
зола, $M_з$	–	2,6 г/с.

Золоочистка на объекте отсутствует. Максимально разовые ПДК загрязняющих веществ для воздуха атмосферы следующие:

диоксид серы	–	0,5 мг/м^3;
оксиды азота	–	0,085 мг/м^3;
зола	–	0,5 мг/м^3.

Расчет максимального значения приземной концентрации вредного вещества $c_м$ (мг/м^3) при выбросе газовоздушной смеси из одиночного точечного источника с круглым устьем при неблагоприятных метеоусловиях на расстоянии $x_м$(м) от источника ведется по формуле:

$$c_м = \frac{AMFmn\eta}{H^2\sqrt[3]{V_1\Delta T}}, \qquad (17.16)$$

где A – коэффициент, зависящий от температурной стратификации атмосферы; M (г/с) – масса вредного вещества, выбрасываемого в атмосферу в единицу времени; F – безразмерный коэффициент, учитывающий скорость оседания вредных веществ в атмосферном воздухе; m и n – коэффициенты, учитывающие условия выхода газовоздушной смеси из устья источника выброса; H (м) – высота источника выброса над уровнем земли (для наземных источников при расчетах принимается $H = 2$ м); η – безразмерный коэффициент, учитывающий влияние рельефа местности, в случае ровной или слабопересеченной местности с перепадом высот, не превышающим 50 м на 1 км, η = 1; ΔT (°С) – разность между температурой, выбрасываемой газовоздушной смеси $T_г$ и температурой окружающего атмосферного воздуха $T_в$; V_1 (м^3/с) – расход газовоздушной смеси.

Значения коэффициента A, соответствующие неблагоприятным метеоусловиям, при которых концентрация вредных веществ в атмосферном воздухе максимальна, принимается равным:

а) 250 – для районов Ср. Азии, южнее 40° с. ш., Республики Бурятия, Читинской обл.;

б) 200 – для европейской территории России: для районов южнее 50° с. ш., для остальных районов южнее Нижнего Поволжья, Сев. Кавказа, Дальнего Востока, остальной территории Сибири и Ср. Азии;

в) 180 – для европейской территории России и Урала от 50° до 52° с. ш., за исключением попадающих в эту зону вышеперечисленных районов;

г) 160 – для европейской территории России и Урала севернее 52° с. ш. (за исключением центра ЕТР);

д) 140 – для Московской, Тульской, Рязанской, Владимирской, Калужской и Ивановской областей.

Значения мощности выброса M (г/с) и расхода газовоздушной смеси V_1 (м^3/с) при проектировании предприятий определяются расчетом в технологической части проекта или принимаются в соответствии с действующими для данного производства (процесса) нормативами. В расчет принимаются сочетания M и V_1, реально имеющие место в течение года при установленных (обычных) условиях эксплуатации предприятия, при которых достигается максимальное значение $c_м$.

Значение V_1 определяют по формуле:

$$V_1 = \frac{\pi D^2}{4} w_0, \qquad (17.17)$$

где D (м) – диаметр устья источника выброса; w_0 (м/с) – средняя скорость выхода газовоздушной смеси из устья источника выброса.

При определении ΔT (°С) следует принимать температуру окружающего атмосферного воздуха в $T_в$ (°С) равной средней максимальной температуре наружного воздуха наиболее жаркого месяца года, а температуру выбрасываемой газовоздушной смеси $T_г$ (°С) – по действующим для данного производства технологическим нормативам.

Значение безразмерного коэффициента F принимается равным 1 для газообразных вредных веществ и мелкодисперсных аэрозолей (пыли, золы и т.п.), скорость упорядоченного оседания которых практически равна нулю. Для мелкодисперсных аэрозолей при среднем эксплуатационном коэффициенте очистки выбросов не менее 90% F = 2; от 75 до 90% – 2,5; менее 75% и при отсутствии очистки – 3.

Для расчета $c_м$ необходимо предварительно определить значения коэффициентов и параметров, входящих в формулу (17.16), а также ряда вспомогательных параметров. Значения коэффициентов A и η принимаем равными, соответственно, 200 и 1. Коэффициент F принимаем равным 1 при расчете $c_м$ диоксида серы и оксидов азота и равным 3 – в случае золы.

Расход газовоздушной смеси (V_1) определяем по формуле:

$$V_1 = \frac{\pi D^2}{4} w_0 = \frac{3,14 \cdot 1,4^2}{4} \cdot 7 = 10,8 \text{ м}^3/\text{с}. \qquad (17.18)$$

Перегрев газовоздушной смеси составляет:

$$\Delta T = T_г - T_в = 125°\text{C} - 25°\text{C} = 100°\text{C}.$$

Для расчета коэффициентов T и n необходимо вначале вычислить по соответствующим формулам значения параметров f, $v_м$, $v'_м$ и f_e:

$$f = 1000\frac{w_0^2 D}{H^2 \cdot T} = 1000\frac{7^2 \cdot 1,4}{35^2 \cdot 100} = 0,56, \qquad (17.19)$$

$$v_м = 0,65\sqrt[3]{\frac{V_1 \Delta T}{H}} = 0,65\sqrt[3]{\frac{10,8 \cdot 100}{35}} = 2,04 \text{ м/с}, \qquad (17.20)$$

$$\nu'_м = 1,3\frac{w_0 D}{H} = \frac{7 \cdot 1,4}{35} = 0,36, \qquad (17.21)$$

$$f_e = (\nu'_м)^3 = 800(0,36)^3 = 37,32\,. \qquad (17.22)$$

Коэффициент m при $f < 100$ рассчитывается по формуле:

$$m = \frac{1}{0,67 + 0,1\sqrt{f} + 0,34\sqrt[3]{f}} = \\ = \frac{1}{0,67 + 0,1\sqrt{0,56} + 0,34\sqrt[3]{0,56}} = 0,98. \qquad (17.23)$$

Коэффициент n при $f < 100$ и $v_м > 2$ принимается равным 1.

Опасная скорость ветра $u_м$ (м/с) на уровне флюгера (~10 м от уровня земли), при которой достигается наибольшее значение приземной концентрации вредных веществ ($c_м$) при $f < 100$ и $v_м > 2$ определяется по формуле:

$$u_м = \nu_м\left(1 + 0,12\sqrt{f}\right) = 2,04\left(1 + 0,12\sqrt{0,56}\right) = 2,2 \text{ м/с}\,. \qquad (17.24)$$

Безразмерный коэффициент d, необходимый для расчета расстояния $x_м$ (м) от источника выбросов, при котором приземная концентрация c при неблагоприятных метеоусловиях достигает максимального значения $c_м$ при $f < 100$ и $v_м > 2$, определяется по формуле:

$$d = 7\sqrt{\nu_м}\left(1 + 0,28\sqrt[3]{f}\right) = \\ = 7\sqrt{2,04}\left(1 + 0,28\sqrt[3]{0,56}\right) = 12,3\,. \qquad (17.25)$$

Расчет концентраций диоксида серы. С учетом исходных данных максимальная концентрация SO_2 составляет:

$$c_м^{SO_2} = \frac{AMFmn\eta}{H^2\sqrt[3]{V_1 \Delta T}} = \frac{200 \cdot 12 \cdot 1 \cdot 0,98 \cdot 1 \cdot 1}{35^2 \cdot \sqrt[3]{10,8 \cdot 100}} = 0,19 \text{ мг/м}^3. \qquad (17.26)$$

Расстояние $x_м$ (м) от источника выбросов при котором приземная концентрация SO_2 при неблагоприятных метеоусловиях достигает максимального значения $c_м$, определяется по формуле:

$$x_м = \frac{5-F}{4} \cdot dH = \frac{5-1}{4} \cdot 12,3 \cdot 35 = 430 \text{ м}. \qquad (17.27)$$

При опасной скорости $u_м$ приземная концентрация SO_2 (мг/м^3) в атмосфере по оси факела выброса на различных расстояниях $x_м$ от источника выброса определяется по формуле:

$$c = s_1 \cdot c_м, \qquad (17.28)$$

где s_1 – безразмерный коэффициент, определяемый в зависимости от соотношения $x / x_м$ и коэффициента F по формулам:

$$s_1 = 3\left(x / x_м\right)^4 - 8\left(x / x_м\right)^3 + 6\left(x / x_м\right)^2 \text{ при } x / x_м \le 1, \qquad (17.29)$$

$$s_1 = \frac{1.13}{0,13\left(x / x_м\right)^2 + 1} \text{ при } 1 < x / x_м \le 8. \qquad (17.30)$$

Вычисленные значения для различных расстояний x приведены в табл. 17.8.

Таблица 17.8

Значения коэффициента s_1 для различных расстояний от источника выброса

$x_м$	$x / x_м$	s_1
50	0,116	0,069
100	0,256	0,232
200	0,465	0,633
400	0,93	1,0
1000	2,32	0,664
3000	6,97	0,154

В табл. 17.9 приведены значения концентраций c^{SO_2} на расстоянии $x_м$, рассчитанные по формуле

$$c = s_1 \cdot c_м, \qquad (17.31)$$

с учетом значений коэффициента s_1, приведенных в табл. 17.8.

Таблица 17.9

Значения концентраций на различных расстояниях от источника выброса

$x_м$, *м*	$c_м$, мг/м^3	s_1	c^{SO_2}, мг/м^3
50	0,19	0,069	0,01
100	0,19	0,232	004
200	0,19	0,633	0,12
400	0,19	1,0	0 19
1000	0,19	0,664	0 13
3000	0,19	0,154	0,03

На рис. 17.2 приведен график зависимости концентрации c^{SO_2} в приземном слое атмосферы от расстояния $x_м$ от источника выброса.

Рис. 17.2. Зависимость содержания c^{SO_2} в приземном слое атмосферы от расстояния $x_м$ от источника выброса

Расчет концентраций диоксида азота. Расчет c^{NO_2} производится аналогично расчету c^{SO_2}. Максимальная концентрация NO_2 составляет:

$$c_м^{NO_2} = \frac{AMFmn\eta}{H^2\sqrt[3]{V_1\Delta T}} = \frac{200\cdot 0,2\cdot 1\cdot 0,98\cdot 1\cdot 1}{35^2\sqrt[3]{10,8\cdot 100}} = 0,003\,\text{мг/м}^3. \qquad (17.32)$$

Расстояние $x_м$ от источника выброса, при котором достигается концентрация $c_м$ составляет:

$$x_м = \frac{5-F}{4}\cdot dH = \frac{5-1}{4}\cdot 12,3\cdot 35 = 430\ \text{м}. \qquad (17.33)$$

Значения коэффициента s_1, необходимые для расчета c^{NO_2} на различных расстояниях $x_м$, приведены в табл. 17.10.

Таблица 17.10

Значения коэффициента S_1 для различных расстояний от источника выброса

$x_м$	$x / x_м$	s_1
50	0,116	0,07
100	0,256	0,27
200	0,465	0,63
400	0,93	0,99
1000	2,32	0,76
3000	6,97	0,15

В табл. 17.11 приведены значения концентраций c^{NO_2} на расстоянии $x_м$, с учетом значений коэффициента s_1, приведенных в табл. 17.10.

Таблица 17.11

Значения концентраций c^{NO_2} на различных расстояниях от источника выброса

$x_м$, м	$c_м^{NO_2}$, мг/м^3	s_1	c^{NO_2}, мг/м^3 c^{NO_2}, мг/м^3
50	0,003	0,07	0,0002
100	0,003	0,27	0,0008
200	0,003	0,63	0,0019
400	0,003	0,98	0,0030
1000	0,003	0,76	0,0022
3000	0,003	0,15	0,0004

Для ускорения расчетов можно воспользоваться соотношением, которым связаны концентрации c^{SO_2} и c^{NO_2}.

$$c^{NO_2} = c^{SO_2} \frac{M_{NO_2}}{M_{SO_2}} = 0.17 \cdot c^{SO_2} . \qquad (17.34)$$

На рис. 17.3 приведен график зависимости концентрации c^{NO_2} в приземном слое атмосферы от расстояния ($x_м$) от источников выброса. c^{NO_2}, мг/м^3

Рис. 17.3. Зависимость концентрации C^{NO_2} в приземном слое атмосферы от расстояния ($x_м$) от источников выброса

Расчет концентраций золы. Максимальная концентрация золы составляет

$$c_м^з = \frac{200 \cdot 2,6 \cdot 3 \cdot 1 \cdot 0,98 \cdot 1}{\sqrt[3]{10,8 \cdot 100}} = 0,12 \text{ мг/м}^3 .$$

Расстояние $x_м$ от источника выброса, при котором достигается концентрация $c_м$, вычисленная по формуле (17.32), составляет

$$x_м = \frac{5-3}{4} \cdot 12,3 \cdot 35 = 215 м .$$

Значения коэффициента, необходимые для расчета $c_м^3$ на различных расстояниях $x_м$ приведены в табл. 17.12.

Таблица 17.12

Значения коэффициента s_1 для различных расстояний от источника выброса

$x_м$	$x/x_м$	s_1
50	0,233	0,232
100	0,465	0,633
200	0,93	1,0
400	1,86	0,78
1000	4,05	0,296
3000	13,9	0,028

В табл. 17.13 приведены значения концентраций c^3 на расстоянии $x_м$ (м) с учетом значений коэффициента s_1, приведенных в табл. 17.12.

Таблица 17.13

Значения концентраций c^3 на различных расстояниях от источника выброса

$x_м$, м	$c_м^3$, мг/м^3	s_1	c^3, мг/м^3
50	0,12	0,232	0,03
100	0,12	0,633	0,08
200	0,12	1,0	0,12
400	0,12	0,78	0,09
1000	0,12	0,296	0,04
3000	0,12	0,028	0,003

Для ускорения расчетов можно воспользоваться соотношениями, которыми связаны концентрации $c_м^3$ и $c_м^{SO_2}$, $x_м^3$ и $x_м^{SO_2}$:

$$c_м^3 = c_м^{SO_2} \cdot \frac{M_з}{M_{SO_2}} \cdot F = \frac{0,19 \cdot 2,6 \cdot 3}{12} = 0,12 \text{ мг/м}^3 \qquad (17.35)$$

$$x_м^3 = x_м^{SO_2} \cdot \frac{5-F}{4} = 430 \frac{5-3}{4} = 215 м. \qquad (17.36)$$

На рис. 17.4 приведен график зависимости концентрации c^3 в приземном слое атмосферы от расстояния $x_м$ от источников выброса.

Рис. 17.4. Зависимость концентрации c^3 в приземном слое атмосферы от расстояния ($x_м$) от источников выброса

17.6. РАСЧЕТ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРЫ С УЧЕТОМ СУММАЦИИ ВРЕДНОГО ДЕЙСТВИЯ НЕСКОЛЬКИХ ВЕЩЕСТВ

При одновременном совместном присутствии в атмосферном воздухе нескольких n веществ, обладающих суммацией вредного действия[42], для каждой группы указанных веществ однонаправленного вредного действия рассчитывается безразмерная суммарная концентрация q. Безразмерная концентрация q определяется по формуле:

$$q = \frac{c_1}{ПДК_1} + \frac{c_2}{ПДК_2} + \ \ldots + \frac{c_n}{ПДК_n}\ , \qquad (17.37)$$

где c_1, c_2, …, c_n (мг/м^3) – расчетная концентрация вредных веществ в атмосферном воздухе в одной и той же точки местности; ПДК$_1$, ПДК$_2$, … ПДК$_n$ (мг/м^3) – соответствующие максимально разовые предельно допустимые концентрации вредных веществ в атмосферном воздухе.

Например, эффектом суммации обладают ацетон и фенол; сернистый ангидрид и двуокись азота; бензол и ацетофенол и др. Списки веществ, обладающих эффектом суммации, публикуются в «Перечнях ПДК загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест».

Для обеспечения требования безопасности необходимо, чтобы безразмерная концентрация q, определенная по формуле (17.37), не превышала единицы:

$$q < 1.$$

Кроме того, может быть рассчитана так называемая **приведенная суммарная концентрация,** когда значения концентраций n вредных веществ, обладающих суммацией вредного действия, приводятся условно к значению

[42] См. главу 7.

концентрации с одного из них (обычно к веществам 3-го класса опасности, например SO_2). Приведенная суммарная концентрация ***c*** рассчитывается по формуле:

$$c = c_1 + c_2 \frac{\text{ПДК}_1}{\text{ПДК}_2} + \ \ldots + c_n \frac{\text{ПДК}_1}{\text{ПДК}_n}, \qquad (17.38)$$

где c_1 – концентрация вещества, к которому осуществляется приведение; ПДК_1 – его ПДК; c_2, c_n и ПДК_2 ... ПДК_n – концентрации n ПДК других веществ, входящих в рассматриваемую группу суммации.

Аналогично рассчитывается приведенная суммарная мощность M выбросов:

$$M = M_1 + M_2 \frac{\text{ПДК}_1}{\text{ПДК}_2} + \ \ldots + M_n \frac{\text{ПДК}_1}{\text{ПДК}_n}, \qquad (17.39)$$

где M_1, M_2 ... M_n – мощности выброса каждого из n веществ; ПДК_2 ... ПДК_n – максимально разовые предельно допустимые концентрации этих веществ. В остальном расчетная схема остается без изменения. В частности, учет суммации для одиночного источника не влияет на значения расстояния $x_м$, где достигается наибольшее значение загрязнения воздуха и опасной скорости ветра.

17.7. УЧЕТ ФОНОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ПРИ РАСЧЕТАХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРЫ И УСТАНОВЛЕНИЯ ФОНА РАСЧЕТНЫМ ПУТЕМ

В случае наличия нескольких источников выбросов их вклад в загрязнение атмосферного воздуха может учитываться путем использования **фоновой концентрации** $c_ф$. Для отдельного источника выброса фоновая концентрация характеризует загрязнение атмосферы в городе или другом населенном пункте, создаваемое другими источниками, исключая данный. Фоновая концентрация определяется как уровень концентраций, превышаемый в 5% наблюдений максимально разовые ПДК, при интервале усреднения 20–30 мин. Определение $c_ф$ проводится на основании действующей нормативно-технической документации.

Фоновая концентрация устанавливается, как правило, единым значением по городу либо, в случае выявления существенной изменчивости, дифференцированно по территории города (постами гидрометеослужбы), а также по градациям скорости и направления ветра.

Значение фоновой концентрации $c_{ф_{id}}$ для i-й примеси в данной точке пространства при направлении ветра от предприятия рассчитывается:

$$c_{ф_{id}} = 1.3 q_{mi} P_d, \qquad (17.40)$$

где P_d – повторяемость (в долях единицы) направлений ветра того румба, который соответствует переносу примеси от предприятия в данную точку; q_{mi} – максимальная концентрация примеси на соответствующем расстоянии от источника.

При расчетах для действующих и реконструируемых источников (предприятий) используется значение фоновой концентрации $c_ф$, представляющей собой фоновую концентрацию, из которой исключен вклад c рассматриваемого источника (предприятия). В этом случае значение фоновой концентрации вычисляется по формуле:

$$c'_ф = c_ф\left(1 - 0,4\frac{c}{c_ф}\right) \text{ при } c \le 2c_ф, \qquad (17.41)$$

$$c'_ф = 0,2c_ф \text{ при } c > 2c_ф, \qquad (17.42)$$

где c – максимальная расчетная концентрация вещества от данного источника (предприятия) для точки размещения метеопоста, на котором устанавливается фон, определенная по формулам раздела 17.6, при значениях параметров выбросов, относящихся к тому периоду времени, за который, по данным наблюдений, и определялась концентрация $C_ф$. При этом для вновь строящихся источников (предприятий):

$$c'_ф = c_ф. \qquad (17.43)$$

В случае присутствия в выбросах веществ, обладающих суммацией вредного действия, допускается использование фоновой концентрации, вычисленной не по отдельным веществам, а совместно по комбинации веществ с суммирующимся вредным действием. При этом фоновая концентрация определяется по концентрациям, приведенным к наиболее распространенному из веществ, входящих в рассматриваемую комбинацию.

17.8. РАСЧЕТ МИНИМАЛЬНОЙ ВЫСОТЫ ИСТОЧНИКА ВЫБРОСА

При установлении минимальной высоты источника выброса необходимо выполнение условий, при котором концентрация каждого вредного вещества в приземном слое атмосферы c не должна превышать максимально разовой ПДК данного вещества в атмосферном воздухе:

$$c \le \text{ПДК}_{\text{м.р.}}. \qquad (17.44)$$

Кроме того, как указывалось в разделе 17.7, при наличии в атмосфере нескольких n вредных веществ, обладающих суммацией действия, их безразмерная суммарная концентрация q, определенная по формуле:

$$q = \frac{c_1}{\text{ПДК}_1} + \frac{c_2}{\text{ПДК}_2} + \ldots \frac{c_n}{\text{ПДК}_n}, \qquad (17.45)$$

не должна превышать единицы:

$$q \le 1.$$

При наличии фонового загрязнения атмосферы в соотношении $c \le \text{ПДК}_{\text{м.р.}}$ вместо c следует принимать $c + c_{\text{ф}}$, где $c_{\text{ф}}$ – фоновая концентрация вредного вещества.

Кроме того, для зон санитарной охраны курортов, мест размещения крупных санаториев, домов отдыха, зон отдыха городов, а также других территорий с повышенными требованиями к охране атмосферного воздуха в формулах (17.45) и (17.46) следует ПДК заменить на 0,8ПДК (см. раздел 17.11).

С учетом вышесказанного, минимальная высота одиночного источника выброса (трубы) H (м) при установленных значениях M (г/с), w_0 (м/с), V_1 (м/с), D (м) при $\Delta T \approx 0$ определяется по формуле:

$$H = \left[\frac{AMFD\eta}{8V_1\left(\text{ПДК} - c_{\text{ф}}\right)} \right]^{3/4}. \qquad (17.46)$$

Если вычисленному по приведенной выше формуле значению H соответствует значение $v'_{\text{м}} \ge 2$, рассчитанное по формуле (17.21), то указанное значение H является окончательным. При $\Delta T > 0$ значение H также рассчитывается по формуле (17.46). Если при этом найденное значение

$$H \le w_0\sqrt{10D/\Delta T}, \qquad (17.47)$$

то оно также является окончательным. В иных случаях значение H определяется методом последовательных приближений, описанных в ОНД-86.

Следует отметить, что увеличение высоты трубы для обеспечения рассеивания вредных веществ с целью соблюдения ПДК в приземном слое атмосферы допускается только после полного использования всех доступных на современном этапе технических средств по сокращению выбросов (в том числе и неорганизованных). При этом использование на энергетических объектах труб высотой более 250 м, а на других производствах – более 200 м, допускается только по согласованию с компетентными органами.

17.9. УСТАНОВЛЕНИЕ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ ВЫБРОСОВ

Предельно допустимый выброс вредных веществ в атмосферу (ПДВ) устанавливается для каждого источника загрязнения атмосферы таким образом, что выбросы вредных веществ от данного источника и от совокупности источников города или другого населенного пункта, с учетом перспективы развития промышленных предприятий и рассеивания вредных веществ в атмосфере, не создают приземную концентрацию, превышающую их ПДК для населения, растительного и животного мира (ГОСТ 17.2.3.02–2014). Значения ПДВ устанавливаются при разработке ведомственных предложений по ПДВ, сводных томов «Охрана атмосферы города и предельно допустимый выброс (ПДВ)», подразделов, касающихся защиты атмосферы от загрязнения в разделе «Охрана окружающей среды», различных видов предпроектной и проектной документации (ППД) на строительство новых и реконструкцию суще-

ствующих предприятий. Установление ПДВ производится с применением методов расчета загрязнения атмосферы промышленными выбросами и с учетом перспектив развития предприятий. При этом учитываются физико–географические и климатические условия местности, расположения промышленных площадок и участков существующей и проектируемой жилой застройки, санаториев, зон отдыха городов, взаимного расположения промплощадок и селитебных территорий.

ПДВ (г/с) устанавливаются для условий полной нагрузки технологического и газоочистного оборудования и их нормальной работы. При этом значения ПДВ не должны превышаться в любой 20-минутный период времени.

Наряду с ПДВ для одиночных источников устанавливаются ПДВ для предприятия в целом. При постоянстве выбросов они находятся как сумма ПДВ одиночных источников и/или групп мелких источников.

ПДВ определяется для каждого вещества отдельно, в том числе и в случаях учета суммации вредного действия нескольких веществ. При установлении ПДВ учитываются фоновые концентрации $c_ф$, при этом для действующих производств $c_ф$ заменяется на c' (см. раздел 17.7).

Для одиночного источника с круглым устьем в случаях, когда $c_ф$ < ПДК$_{м.р.}$ значение ПДВ (г/с) определяется по формуле:

$$\text{ПДВ} = \frac{\left(\text{ПДК}_{\text{м.р.}} - c_ф\right) H^2}{AFmn\eta} \sqrt[3]{V_1}\Delta T \,. \qquad (17.48)$$

В случае $f \geq 1000$ или $\Delta T \sim 0$ ПДВ определяется по формуле:

$$\text{ПДВ} = \frac{\left(\text{ПДК}_{\text{м.р.}} - c_ф\right) H^2}{AFn\eta} \cdot \frac{8V_1}{D} \,. \qquad (17.49)$$

Установлению ПДВ отдельного источника предшествует определение его зоны влияния, радиус которой приближенно оценивается как наибольшее из двух расстояний от источника x_1 и x_2 (м); где $x_1 = 10x_м$. Значение x_2 определяется как расстояние от источника, начиная с которого $c \leq 0{,}05$ ПДК$_{м.р.}$. Определение $c_м$, $x_м$ ведут по формулам раздела 17.5.

Для предприятий также устанавливают зоны влияния, включающие круги радиусом x_1, проведенные вокруг каждой из труб предприятия и участки местности, где рассчитанное на ЭВМ суммарное загрязнение атмосферы от всей совокупности источников выброса данного предприятия превышает 0,05 ПДК$_{м.р.}$.

Если при строительстве нового или реконструкции действующего предприятия окажется, что $c'_ф$ > ПДК$_{м.р.}$, то увеличение мощности выброса от реконструируемых объектов и строительства новых объектов с выбросами тех же веществ или веществ, обладающих с ними суммацией вредного действия, может быть допущено только при одновременном обеспечении снижения вы-

бросов вредных веществ в атмосферу на остальных объектах рассматриваемого предприятия или на других предприятиях города.

В случае если в воздухе городов и других населенных пунктов концентрации вредных веществ превышают $ПДК_{м.р.}$, а значения ПДВ в настоящее время не могут быть достигнуты, по согласованию с компетентными органами предусматривается поэтапное, с указанием длительности каждого этапа, снижение выбросов вредных веществ до значений ПДВ, обеспечивающих достижение $ПДК_{м.р.}$. На каждом этапе до обеспечения значений ПДВ устанавливаются временно согласованные выбросы вредных веществ (ВСВ). При установлении ВСВ следует пользоваться теми же приемами расчета, что при установлении ПДВ.

В соответствии с действующим законодательством, в целях государственного регулирования выбросов наряду с общепринятым нормативом ПДВ устанавливается технический норматив выброса (ТНВ). Норматив ПДВ устанавливается с учетом ТНВ, а норматив ВСВ может быть установлен только при условии соблюдения ТНВ. ТНВ – это характеристика уровня экологичности технологического оборудования или процесса, которые достаточно широко используются за рубежом. Наличие таких нормативов позволяет существенно упростить контроль за воздухоохранной деятельностью предприятий и обоснованно разрабатывать стратегию снижения негативного воздействия конкретного объекта на окружающую природную среду.

17.10. САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ОХРАНЕ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ

Как уже указывалось, основой регулирования качества атмосферного воздуха населенных мест являются гигиенические нормативы – ПДК загрязняющих веществ. Действующими санитарными правилами и нормами (СанПиНы) не допускается превышение ПДК на селитебных и других территориях проживания и 0,8 ПДК в местах массового отдыха населения, а также на территориях размещения лечебно-профилактических учреждений длительного пребывания больных и центров реабилитации. К местам массового отдыха населения следует относить территории, выделенные в генпланах городов, схемах районной планировки и развития пригородной зоны, решениях местных органов управления для организации курортных зон, размещения санаториев, домов отдыха, пансионатов, баз туризма, дачных и садово-огородных участков, организованного отдыха населения (городских пляжей, парков, спортивных баз и их сооружений на открытом воздухе). Запрещается размещать, проектировать, строить и вводить в эксплуатацию объекты, в составе выбросов которых присутствуют вещества, не имеющие утвержденных ПДК или ОБУВ (ориентировочных безопасных уровней воздействия). Предотвращение появления запахов раздражающего действия и рефлекторных реакций у населения, а также острого влияния атмосферных загрязнений на здоровье в период кратковременных подъемов концентраций обеспечивается соблюдением максимальных разовых ПДК ($ПДК_{м.р.}$). Предотвращение неблагоприятного влия-

ния на здоровье населения при длительном поступлении атмосферных загрязнений в организм обеспечивается соблюдением среднесуточных ПДК ($ПДК_{с.с.}$). Соблюдение для жилых территорий ПДК, а для зон массового отдыха 0,8 ПДК обеспечивается с учетом суммации биологического действия веществ или продуктов их трансформации в атмосфере, а также загрязнения атмосферы за счет действующих, строящихся и намеченных к строительству объектов, являющихся источниками загрязнения атмосферного воздуха.

При размещении, проектировании, строительстве и вводе в эксплуатацию новых и реконструированных объектов, при техническом перевооружении действующих объектов граждане, индивидуальные предприниматели, юридические лица обязаны осуществлять меры по максимально возможному снижению выброса загрязняющих веществ с использованием малоотходной и безотходной технологии, комплексного использования природных ресурсов, а также мероприятия по улавливанию, обезвреживанию и утилизации вредных выбросов и отходов.

Запрещается проектирование, строительство и ввод в эксплуатацию объектов, являющихся источниками загрязнения атмосферы, на территориях с уровнями загрязнения, превышающими установленные гигиенические нормативы. Реконструкция и техническое перевооружение действующих объектов разрешается на таких территориях при условии сокращения на них выбросов в атмосферу до предельно допустимых (ПДВ). Запрещается размещение, проектирование, строительство и ввод в эксплуатацию объектов, если в составе выбросов присутствуют вещества, не имеющие утвержденных ПДК или ОБУВ. Площадка для строительства новых и расширения существующих объектов выбирается с учетом аэроклиматической характеристики, рельефа местности, закономерностей распространения промышленных выбросов в атмосфере, а также потенциала загрязнения атмосферы (ПЗА). Размещение предприятий, отнесенных в соответствии с санитарной классификацией к I и II классам вредности, на территориях с высоким и очень высоким ПЗА решается в индивидуальном порядке Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации или его заместителем. Не допускается размещать в жилой зоне и местах массового отдыха объекты I и II классов вредности.

В связи с введением в практику нормирования экологических критериев качества воздуха актуальным является и вопрос о переходе от термина «санитарно-защитная зона» к термину «экозащитная зона» (ЭЗЗ), т.е. зона за пределами которой обеспечивается соблюдение соответствующих нормативов качества атмосферного воздуха.

17.11. САНИТАРНО-ЗАЩИТНЫЕ ЗОНЫ

В целях обеспечения безопасности населения вокруг объектов и производств, являющихся источниками воздействия на среду обитания и здоровье человека, устанавливается специальная территория с особым режимом использования (далее – санитарно-защитная зона (СЗЗ), размер которой обеспечивает уменьшение воздействия загрязнения на атмосферный воздух (химического, биологического, физического) до значений, установленных гигиени-

ческими нормативами, а для предприятий I и II класса опасности – как до значений, установленных гигиеническими нормативами, так и до величин приемлемого риска для здоровья населения. По своему функциональному назначению санитарно-защитная зона является защитным барьером, обеспечивающим уровень безопасности населения при эксплуатации объекта в штатном режиме.

Ориентировочный размер санитарно-защитной зоны должен быть обоснован проектом санитарно-защитной зоны с расчетами ожидаемого загрязнения атмосферного воздуха (с учетом фона) и уровней физического воздействия на атмосферный воздух и подтвержден результатами натурных исследований и измерений. Критерием для определения размера санитарно-защитной зоны является непревышение на ее внешней границе и за ее пределами ПДК (предельно допустимых концентраций) загрязняющих веществ для атмосферного воздуха населенных мест, ПДУ (предельно допустимых уровней) физического воздействия на атмосферный воздух. Для групп промышленных объектов и производств или промышленного узла (комплекса) устанавливается единая расчетная и окончательно установленная санитарно-защитная зона с учетом суммарных выбросов в атмосферный воздух и физического воздействия источников промышленных объектов и производств, входящих в единую зону.

Организации, промышленные объекты и производства, группы промышленных объектов и сооружения, являющиеся источниками воздействия на среду обитания и здоровье человека, необходимо отделять санитарно-защитными зонами от территории жилой застройки, ландшафтно-рекреационных зон, зон отдыха, территорий курортов, санаториев, домов отдыха, стационарных лечебно-профилактических учреждений, территорий садоводческих товариществ и коттеджной застройки, коллективных или индивидуальных дачных и садово-огородных участков.

Для автомагистралей, линий железнодорожного транспорта, метрополитена, гаражей и автостоянок, а также вдоль стандартных маршрутов полета в зоне взлета и посадки воздушных судов, устанавливается расстояние от источника химического, биологического и/или физического воздействия, уменьшающее эти воздействия до значений гигиенических нормативов (далее – санитарные разрывы). Величина разрыва устанавливается в каждом конкретном случае на основании расчетов рассеивания загрязнения атмосферного воздуха и физических факторов (шума, вибрации, электромагнитных полей и др.) с последующим проведением натурных исследований и измерений.

Лабораторные исследования атмосферного воздуха и измерения физических воздействий на атмосферный воздух проводятся на границе санитарно-защитной зоны промышленных объектов и производств, а также в жилой застройке, лабораториями, аккредитованными в установленном порядке на проведение таких работ. В зависимости от характеристики выбросов для промышленного объекта и производства, по которым ведущим для установления санитарно-защитной зоны фактором является химическое загрязнение атмосферного воздуха, размер санитарно-защитной зоны устанавливается от границы промплощадки и/или от источника выбросов загрязняющих веществ.

От границы территории промплощадки:

– от организованных и неорганизованных источников при наличии технологического оборудования на открытых площадках;

– в случае организации производства с источниками, рассредоточенными по территории промплощадки;

– при наличии наземных и низких источников, холодных выбросов средней высоты.

От источников выбросов:

– при наличии высоких, средних источников нагретых выбросов.

На территории с превышением показателей фона выше гигиенических нормативов не допускается размещение промышленных объектов и производств, являющихся источниками загрязнения среды обитания и воздействия на здоровье человека. Для действующих объектов, являющихся источниками загрязнения среды обитания человека, разрешается проведение реконструкции или перепрофилирование производств при условии снижения всех видов воздействия на среду обитания до предельно допустимой концентрации (ПДК) при химическом и биологическом воздействии и предельно допустимого уровня (ПДУ) при воздействии физических факторов с учетом фона.

Размер санитарно-защитной зоны для групп промышленных объектов и производств или промышленного узла (комплекса) устанавливается с учетом суммарных выбросов и физического воздействия источников промышленных объектов и производств, входящих в промышленную зону, промышленный узел (комплекс). Для них устанавливается единая расчетная санитарно-защитная зона, и после подтверждения расчетных параметров данными натурных исследований и измерений, оценки риска для здоровья населения окончательно устанавливается размер санитарно-защитной зоны. Оценка риска для здоровья населения проводится для групп промышленных объектов и производств или промышленного узла (комплекса), в состав которых входят объекты I и II классов опасности.

Для промышленных объектов и производств, входящих в состав промышленных зон, промышленных узлов (комплексов), санитарно-защитная зона может быть установлена индивидуально для каждого объекта.

При размещении объектов малого бизнеса, относящихся к V классу опасности, в условиях сложившейся градостроительной ситуации (при невозможности соблюдения размеров ориентировочной санитарно-защитной зоны) необходимо обоснование размещения таких объектов с ориентировочными расчетами ожидаемого загрязнения атмосферного воздуха и физического воздействия на атмосферный воздух (шум, вибрация, электромагнитные излучения). При подтверждении расчетами на границе жилой застройки соблюдения установленных гигиенических нормативов загрязняющих веществ в атмосферном воздухе и уровней физического воздействия на атмосферный воздух населенных мест проект обоснования санитарно-защитной зоны не разрабатывается, натурные исследования и измерения атмосферного воздуха не проводятся.

Для действующих объектов малого бизнеса V класса опасности в качестве обоснования их размещения используются данные исследований атмосферно-

го воздуха и измерений физических воздействий на атмосферный воздух, полученные в рамках проведения надзорных мероприятий.

Для размещения микропредприятий малого бизнеса с количеством работающих не более 15 человек необходимо уведомление от юридического лица или индивидуального предпринимателя о соблюдении действующих санитарно-гигиенических требований и нормативов на границе жилой застройки. Подтверждением соблюдения гигиенических нормативов на границе жилой застройки являются результаты натурных исследований атмосферного воздуха и измерений уровней физических воздействий на атмосферный воздух в рамках проведения надзорных мероприятий.

17.11.1. РЕЖИМ ТЕРРИТОРИИ САНИТАРНО-ЗАЩИТНОЙ ЗОНЫ

В санитарно-защитной зоне не допускается размещать: жилую застройку, включая отдельные жилые дома, ландшафтно-рекреационные зоны, зоны отдыха, территории курортов, санаториев и домов отдыха, территорий садоводческих товариществ и коттеджной застройки, коллективных или индивидуальных дачных и садово-огородных участков, а также других территорий с нормируемыми показателями качества среды обитания; спортивные сооружения, детские площадки, образовательные и детские учреждения, лечебно-профилактические и оздоровительные учреждения общего пользования.

В санитарно-защитной зоне и на территории объектов других отраслей промышленности не допускается размещать объекты по производству лекарственных веществ, лекарственных средств и (или) лекарственных форм, склады сырья и полупродуктов для фармацевтических предприятий; объекты пищевых отраслей промышленности, оптовые склады продовольственного сырья и пищевых продуктов, комплексы водопроводных сооружений для подготовки и хранения питьевой воды, которые могут повлиять на качество продукции.

Допускается размещать в границах санитарно-защитной зоны промышленного объекта или производства: нежилые помещения для дежурного аварийного персонала, помещения для пребывания работающих по вахтовому методу (не более двух недель), здания управления, конструкторские бюро, здания административного назначения, научно-исследовательские лаборатории, поликлиники, спортивно-оздоровительные сооружения закрытого типа, бани, прачечные, объекты торговли и общественного питания, мотели, гостиницы, гаражи, площадки и сооружения для хранения общественного и индивидуального транспорта, пожарные депо, местные и транзитные коммуникации, ЛЭП, электроподстанции, нефте- и газопроводы, артезианские скважины для технического водоснабжения, водоохлаждающие сооружения для подготовки технической воды, канализационные насосные станции, сооружения оборотного водоснабжения, автозаправочные станции, станции технического обслуживания автомобилей.

В санитарно-защитной зоне объектов пищевых отраслей промышленности, оптовых складов продовольственного сырья и пищевой продукции, производства лекарственных веществ, лекарственных средств и (или) лекарственных форм, складов сырья и полупродуктов для фармацевтических предприятий, допускается размещение новых профильных, однотипных объектов, при исключении взаимного негативного воздействия на продукцию, среду обитания и здоровье человека.

Автомагистраль, расположенная в санитарно-защитной зоне промышленного объекта и производства или прилегающая к санитарно-защитной зоне, не входит в ее размер, а выбросы автомагистрали учитываются в фоновом загрязнении при обосновании размера санитарно-защитной зоны.

Санитарно-защитная зона или какая-либо ее часть не может рассматриваться как резервная территория объекта и использоваться для расширения промышленной или жилой территории без соответствующей обоснованной корректировки границ санитарно-защитной зоны.

17.11.2. САНИТАРНАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОМЫШЛЕННЫХ ОБЪЕКТОВ, РАЗМЕРЫ ОРИЕНТИРОВОЧНЫХ САНИТАРНО-ЗАЩИТНЫХ ЗОН ДЛЯ НИХ

Для промышленных объектов и производств, сооружений, являющихся источниками воздействия на среду обитания и здоровье человека, в зависимости от мощности, условий эксплуатации, характера и количества выделяемых в окружающую среду загрязняющих веществ, создаваемого шума, вибрации и других вредных физических факторов, а также с учетом предусматриваемых мер по уменьшению неблагоприятного влияния их на среду обитания и здоровье человека в соответствии с санитарной классификацией промышленных объектов и производств, устанавливаются следующие ориентировочные размеры санитарно-защитных зон:

- промышленные объекты и производства первого класса – 1000 м;
- промышленные объекты и производства второго класса – 500 м;
- промышленные объекты и производства третьего класса – 300 м;
- промышленные объекты и производства четвертого класса – 100 м;
- промышленные объекты и производства пятого класса – 50 м.

В качества примера в табл. 17.14 приведены промышленные объекты, характер производства которых отнесен к I классу (санитарно-защитная зона 1000 м).

Таблица 17.14

Предприятия различных отраслей промышленности, относящиеся к I классу опасности (санитарно-защитная зона 1000 м)

Санитарная классификация промышленных объектов и проиводств	Промышленные объекты и характер производства
Химические объекты и производства	Производство связанного азота (аммиака, азотной кислоты, азотно-туковых и других удобрений).
Металлургические, машиностроительные и металлообрабатывающие объекты и производства	Производство чугуна и стали с полным металлургическим циклом более 1 млн т/год
Добыча руд и нерудных ископаемых	Добыча нефти при выбросе сероводорода от 0,5 до 1 т/сутки, а также с высоким содержанием летучих углеводородов
Строительная промышленность	Производство цемента, доломита, асбеста
Обработка древесины	Химическая переработка дерева и получение древесного угля
Текстильные производства и производства легкой промышленности	Первичная обработка хлопка с устройством цехов по обработке семян ртутно-органическими препаратами
Обработка животных продуктов	Производство клея из остатков кожи, полевой и свалочной кости и других животных отходов
Промышленные объекты и производства по обработке пищевых продуктов и вкусовых веществ	Содержание и убой скота, включая базы предубойного содержания скота в пределах до трехсуточного запаса скотсырья
Микробиологическая промышленность	Производство белково-витаминных концентратов (БВК) из углеводородов
Объекты и производства агропромышленного комплекса и малого предпринимательства	Свиноводческие комплексы, птицефабрики с содержанием более 400 тыс. кур-несушек и более 3 млн бройлеров в год
Сооружения санитарно-технические, транспортной инфраструктуры, объекты коммунального назначения, спорта, торговли и оказания услуг	Усовершенствованные свалки твердых бытовых отходов. Поля ассенизации и поля запахивания. Скотомогильники с захоронением в ямах. Утильзаводы для ликвидации трупов животных и конфискатов. Крематории, при количестве печей более одной. Мусоросжигательные и мусороперерабатывающие объекты мощностью свыше 40 тыс т/год

Глава 18

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД

В начале XXI века химическое загрязнение объектов окружающей природной среды (атмосферы, воды, почвы) остается приоритетным негативным фактором хозяйственной деятельности человека.

18.1. ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД ОТ ЗАГРЯЗНЕНИЙ

Система мер, направляемых на достижение целей охраны вод, включает в себя мероприятия по нормированию качества воды в водном объекте, регламентацию сброса нормированных веществ, обеспечивающих соблюдение норм качества воды в контрольном створе водоемов или водотоков или неухудшение ее состава и качества в случае, когда эти нормы превышаются. Важное значение имеет также контроль за соблюдением установленных условий сброса нормированных веществ и выполнение водоохранных требований к различным видам хозяйственной деятельности. Нормирование качества воды состоит в установлении для воды водного объекта совокупности допустимых показателей ее состава и свойств, в пределах которых надежно обеспечивается здоровье населения, благоприятные условия водопользования и экологическое благополучие водного объекта. Действующие правила[43] устанавливают гигиенические требования к качеству воды водных объектов в пунктах питьевого, хозяйственно-бытового и рекреационного водопользования, к условиям отведения сточных вод в водные объекты, к размещению, проектированию, строительству, реконструкции и эксплуатации хозяйственных и других объектов, способных оказать влияние на состояние поверхностных вод, а также требования к организации контроля за качеством воды водных объектов.

Охрана поверхностных вод направлена на предотвращение и устранение их загрязнения, которое может привести к нарушению здоровья населения, развитию массовых инфекционных, паразитарных и неинфекционных заболеваний, а также к ухудшению условий водопользования населения. Водные объекты питьевого, хозяйственно-бытового и рекреационного водопользования считаются загрязненными, если показатели состава и свойства воды в пунктах водопользования изменились под прямым или косвенным влиянием хозяйственной деятельности, бытового использования и стали частично или полностью непригодными для водопользования населения. Пунктом водопользования является участок водного

[43] СанПиН 2.1.5.980-00.

объекта, используемый населением для питьевого, хозяйственно-бытового водоснабжения, рекреации и спорта. Водопользователи на основе регламентированных условий сброса сточных вод и требований к различным видам хозяйственной деятельности обязаны обеспечить разработку и реализацию водоохранных мероприятий, осуществление контроля за использованием и охраной вод, принятие мер по предотвращению и ликвидации загрязнения водных объектов, в т.ч. и вследствие залпового или аварийного сброса.

Государственный надзор за соблюдением требований санитарных правил осуществляется органами и учреждениями Государственной санитарно-эпидемиологической службы Российской Федерации в соответствии с действующим законодательством. Органы исполнительной власти субъектов Российской Федерации, органы местного самоуправления, индивидуальные предприниматели и юридические лица, в случае если водные объекты представляют опасность для здоровья населения, обязаны в соответствии с их полномочиями принять меры по ограничению, приостановлению или запрещению использования указанных водных объектов.

18.2. ТРЕБОВАНИЯ К САНИТАРНОЙ ОХРАНЕ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

В целях охраны водных объектов от загрязнения не допускается сбрасывать в водные объекты сточные воды (производственные, хозяйственно-бытовые, поверхностно-ливневые и т.д.), которые могут быть устранены путем организации малоотходных производств, рациональной технологии, максимального использования в системах оборотного и повторного водоснабжения после соответствующей очистки и обеззараживания в промышленности, городском хозяйстве и для орошения в сельском хозяйстве.

Запрещены к сбрасыванию в поверхностные водные объекты сточные воды, содержащие возбудителей инфекционных заболеваний бактериальной, вирусной и паразитарной природы. Сточные воды, опасные по эпидемиологическому критерию, могут сбрасываться в водные объекты только после соответствующей очистки и обеззараживания. При этом число термотолерантных колиформных бактерий должно составлять КОЕ/100 мл $\leq$ 100, число общих колиформных бактерий – КОЕ/100 мл $\leq$ 500, а число колифагов – БОЕ/100 мл $\leq$ 100.

Не допускается также сбрасывать в водные объекты сточные воды, которые содержат вещества (или продукты их трансформации) с не установленными гигиеническими ПДК или ОДУ и отсутствующими методами их определения. Сюда же относятся сточные воды, содержащие чрезвычайно опасные вещества, для которых нормативы установлены с пометкой «отсутствие».

Не разрешен сброс промышленных, сельскохозяйственных, городских сточных вод, а также организованный сброс ливневых сточных вод в пределах первого пояса зон санитарной охраны источников хозяйственно-питьевого водоснабжения; в черте населенных пунктов; в пределах первого и второго поясов округов санитарной охраны курортов, в местах туризма, спорта и массового отдыха населения; в водные объекты, содержащие природные лечебные ресурсы; в пределах второго пояса зон санитарной охраны источников хозяйственно-питьевого водоснабжения, если содержание в них загрязняющих веществ и микроорганизмов превышает установленные настоящими санитарными правилами гигиенические нормативы.

Запрещено производить мойку автотранспортных средств и других механизмов в водных объектах и на их берегах, а также проводить работы, которые могут явиться источником загрязнения вод. Не допускаются утечки от нефте- и продуктопроводов, нефтепромыслов, а также сброс мусора, неочищенных сточных, подсланевых, балластных вод и утечки других веществ с плавучих средств водного транспорта.

Сточные воды, которые технически невозможно использовать в системах повторного, оборотного водоснабжения в промышленности, городском хозяйстве, для орошения в сельском хозяйстве и для других целей, допускается отводить в водные объекты после очистки в соответствии с требованиями настоящих санитарных правил к санитарной охране водных объектов и соблюдении нормативов качества воды в пунктах водопользования.

Сброс сточных вод с судов допускается после очистки и обеззараживания на судовых установках, разрешенных к эксплуатации органами и учреждениями государственной санитарно-эпидемиологической службы, за пределами 1-го и 2-го поясов зон санитарной охраны источников централизованного питьевого водоснабжения и вне черты населенных мест. Предоставление отдельных водоемов, водотоков или их участков в обособленное водопользование для конкретных хозяйственных целей, в т.ч. для охлаждения подогретых вод (пруды-охладители), создание лесотоварных баз и др. производится только вне 1-го и 2-го поясов зоны санитарной охраны источников. Отведение поверхностного стока с промплощадок и жилых зон через дождевую канализацию должно исключать поступление в нее хозяйственно-бытовых, производственных сточных вод и промышленных отходов. К отведению поверхностного стока в водные объекты предъявляются такие же требования, как к сточным водам.

18.3. НОРМАТИВЫ КАЧЕСТВА ВОДЫ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

Санитарными правилами установлены гигиенические нормативы состава и свойств воды в водных объектах для двух категорий водопользования. К *первой категории* водопользования относится использование водных объектов или их участков в качестве источника питьевого и хозяйственно-бытового водопользования, а также для водоснабжения предприятий пищевой промышленности. Ко *второй категории* водопользования относится использование водных объектов или их участков для рекреационного водопользования. Требования к качеству воды, установленные для второй категории водопользования, распространяются также на все участки водных объектов, находящихся в черте населенных мест. Качество воды водных объектов должно соответствовать требованиям, указанным в табл. 18.1. Содержание химических веществ не должно превышать гигиенические предельно допустимые концентрации и ориентировочные допустимые уровни веществ в воде водных объектов, утвержденные в установленном порядке. При отсутствии установленных гигиенических нормативов водопользователь обеспечивает разработку ОДУ или ПДК, а также метода определения вещества и/или продуктов его трансформации с нижним пределом измерения $\leq$ 0,5 ПДК.

Таблица 18.1

Общие требования к составу и свойствам воды водных объектов в контрольных створах и местах питьевого, хозяйственно-бытового и рекреационного водопользования

№	Показатели	Категории водопользования	
		Для питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения, а также для водоснабжения пищевых предприятий	**Для рекреационного водопользования, а также в черте населенных мест**
1	Взвешенные вещества*	При сбросе сточных вод, производстве работ на водном объекте и в прибрежной зоне содержание взвешенных веществ в контрольном створе (пункте) не должно увеличиваться по сравнению с естественными условиями более чем на	
		0,25 мг/дм^3	0,75 мг/дм^3
		Для водных объектов, содержащих в межень более 30 мг/дм^3 природных взвешенных веществ, допускается увеличение их содержания в воде в пределах 5%. Взвеси со скоростью выпадения более 0,4 мм/с для проточных водоемов и более 0,2 мм/с для водохранилищ к спуску запрещаются	
2	Плавающие примеси	На поверхности воды не должны обнаруживаться пленки нефтепродуктов, масел, жиров и скопление других примесей	
3	Окраска	Не должна обнаруживаться в столбике	
		20 см	10 см
4	Запахи	Вода не должна приобретать запахи интенсивностью более 2 баллов, обнаруживаемые:	
		непосредственно или при последующем хлорировании или других способах обработки	непосредственно
5	Температура	Летняя температура воды в результате сброса сточных вод не должна повышаться более чем на 3°С по сравнению со среднемесячной температурой воды самого жаркого месяца года за последние 10 лет	
6	Водородный показатель (pH)	Не должен выходить за пределы 6,5–8,5	
7	Минерализация воды	Не более 1000 мг/дм^3, в т. ч.: хлоридов – 350; сульфатов – 500 мг/дм^3	
8	Растворенный кислород	Не должен быть менее 4 мг/дм^3 в любой период года, в пробе, отобранной до 12 часов дня.	
9	Биохимическое потребление кислорода ($БПК_5$)	Не должно превышать при температуре 20°С	
		2 мг/дм^3	4 мг/дм^3
10	Химическое потребление кислорода (бихроматная окисляемость), ХПК	Не должно превышать:	
		15 мг/дм^3	30 мг/дм^3

11	Химические вещества	Не должны содержаться в воде водных объектов в концентрациях, превышающих ПДК или ОДУ	
12	Возбудители кишечных инфекций	Вода не должна содержать возбудителей кишечных инфекций	
13	Жизнеспособные яйца гельминтов (аскарид, власоглав, токсокар, фасциол), онкосферы тениид и жизнеспособные цисты патогенных кишечных простейших	Не должны содержаться в 25 л воды	
14	Термотолерантные колиформные бактерии**	Не более 100 КОЕ/100 мл**	Не более 100 КОЕ/100 мл
15	Общие колиформные бактерии**	Не более	
		1000 КОЕ/100 мл**	500 КОЕ/100 мл
16	Колифаги**	Не более	
		10 БОЕ/100 мл**	10 БОЕ/100 мл

Примечание:

* Содержание в воде взвешенных веществ неприродного происхождения (хлопья гидроксидов металлов, образующиеся при обработке сточных вод, частички асбеста, стекловолокна, базальта, капрона, лавсана и т. д.) не допускается.

** Для централизованного водоснабжения; при нецентрализованном питьевом водоснабжении вода подлежит обеззараживанию.

В случае присутствия в воде водного объекта двух и более веществ 1-го и 2-го классов опасности, характеризующихся однонаправленным механизмом токсического действия, в том числе канцерогенных, сумма отношений концентраций каждого из них к соответствующим ПДК не должна превышать единицу:

$$\frac{C_1}{\text{ПДК}_1}+\frac{C_2}{\text{ПДК}_2}+...+\frac{C_n}{\text{ПДК}_n}\le 1,$$

где C_1 … C_n – концентрации n веществ, обнаруживаемые в воде водного объекта; ПДК_1, ПДК_2 – ПДК тех же веществ.

18.4. ТРЕБОВАНИЯ К РАЗМЕЩЕНИЮ, ПРОЕКТИРОВАНИЮ, СТРОИТЕЛЬСТВУ, РЕКОНСТРУКЦИИ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ХОЗЯЙСТВЕННЫХ И ДРУГИХ ОБЪЕКТОВ

Соблюдение санитарных правил обязательно при размещении, проектировании, вводе в эксплуатацию и эксплуатации хозяйственных или других объектов и проведении любых работ, способных оказать влияние на качество воды водных объектов. Строительство хозяйственных, промышленных и других объектов, в т.ч. очистных сооружений, допускается по проектам, имеющим заключение органов и учреждений государственной санитарно-эпидемиологической службы об их соответствии санитарным нормам и правилам. Не допускается ввод в эксплуатацию новых и реконструируемых хозяйственных и других объектов, которые не обеспечены мероприятиями и сооружениями для предотвращения или устранения существующего загрязнения поверхностных вод, без опробования, испытания и проверки работы всего оборудования, включая лабораторный контроль за качеством водных объектов. Любое изменение технологических процессов, связанных с увеличением объема, изменением состава сточных вод, а также концентраций содержащихся в них веществ без заключения органов государственной санитарно-эпидемиологической службы не допускается.

Место выпуска сточных вод населенного пункта должно быть расположено ниже по течению, за его пределами с учетом возможного обратного течения при нагонных явлениях. Место выпуска сточных вод в непроточные и малопроточные водные объекты должно определяться с учетом санитарных, метеорологических и гидрологических условий. Сброс сточных и дренажных вод в черте населенных мест через существующие выпуски допускается лишь в исключительных случаях при соответствующем технико-экономическом обосновании и по согласованию с органами государственной санитарно-эпидемиологической службы. В этом случае нормативные требования, предъявленные к составу и свойствам сточных вод, должны соответствовать требованиям, предъявляемым к воде водных объектов питьевого, хозяйственно-бытового и рекреационного водопользования. При проектировании сооружений обеззараживания сточных вод выбирается метод (хлорирование, ультра-

фиолетовая обработка, озонирование и др.) с учетом эффективности обеззараживания и сравнительной опасности продуктов трансформации. Расчет допустимых сбросов сточных вод, подвергшихся обеззараживанию, должен быть выполнен с учетом количественного и качественного состава продуктов трансформации.

Для объектов, сбрасывающих сточные воды, устанавливаются нормативы допустимых сбросов веществ в водные объекты (НДС), которые утверждаются специально уполномоченными органами по охране окружающей природной среды только после согласования с органами и учреждениями государственной санитарно-эпидемиологической службы. НДС устанавливаются для каждого выпуска сточных вод и каждого загрязняющего вещества, в т.ч. продуктов его трансформации, исходя из условия, что их концентрации не будут превышать гигиенических нормативов химических веществ и микроорганизмов в воде водного объекта в створе не далее 500 м от места выпуска. При расчете НДС ассимилирующая способность водных объектов не должна учитываться. При наличии в сточных водах химических веществ, содержащихся в воде фонового створа (принятого для расчета НДС) на уровне ПДК, в расчетах НДС не должны учитываться процессы разбавления.

Временные сбросы (ВДС) химических веществ, устанавливаемые для действующих предприятий на период осуществления мер по достижению НДС (на срок не более 5 лет), не должны создавать в расчетном створе концентрации, превышающие их максимально недействующие концентрации (МНК) по санитарно-токсикологическому признаку вредности.

При сбросе сточных вод в систему водоотведения населенного пункта или предприятия ответственность за соблюдение нормативных требований к сбросу в водные объекты несет предприятие, сбрасывающее сточные воды в водный объект.

Водопользователи обязаны:

– проводить согласованные с органами и учреждениями государственной санитарно-эпидемиологической службы или по предписаниям указанных органов и учреждений организационно-технические, санитарно-эпидемиологические или иные мероприятия, направленные на соблюдение гигиенических нормативов качества воды водных объектов;

– обеспечивать проведение работ по обоснованию безопасности и безвредности для здоровья человека материалов, реагентов, технологических процессов и устройств, используемых при очистке сточных вод, в канализационных, гидротехнических сооружениях и других технических объектах, которые могут привести к загрязнению поверхностных вод;

– обеспечивать контроль состава сбрасываемых сточных вод и качества воды водных объектов;

– своевременно, в установленном порядке, информировать органы и учреждения государственной санитарно-эпидемиологической службы об угрозе возникновения, а также при возникновении аварийных ситуаций, представляющих опасность для здоровья населения или условий водопользования.

18.5. ТРЕБОВАНИЯ К ОРГАНИЗАЦИИ НАДЗОРА И КОНТРОЛЯ ЗА КАЧЕСТВОМ ВОДЫ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

В соответствии с требованиями санитарных правил должен осуществляться государственный санитарно-эпидемиологический надзор и производственный контроль за составом сточных вод и качеством воды водных объектов питьевого, хозяйственно-бытового и рекреационного водопользования. Производственный контроль за составом сточных вод и качеством воды водных объектов обеспечивается организациями и предприятиями, иными хозяйствующими субъектами, являющимися водопользователями, независимо от подчиненности и форм собственности, в лабораториях, аккредитованных (аттестованных) в установленном порядке.

Размещение пунктов контроля, перечень загрязняющих веществ, подлежащих контролю, а также периодичность проведения исследований и предоставления данных согласовываются с органами и учреждениями государственной санитарно-эпидемиологической службы.

В основе выбора приоритетных региональных показателей, подлежащих контролю, лежит ориентация на вещества, в наибольшей степени опасные для здоровья населения и наиболее характерные для сбрасываемых в водные объекты региона сточных вод. Сущность их выбора сводится к последовательному исключению из общего перечня поступающих в водоем загрязнений тех веществ, которые не приоритетны для контроля. В итоге качество воды водного объекта на региональном уровне оценивается как по общим показателям (табл. 18.1), единым для всех водоемов страны, так и по дополнительному перечню приоритетных загрязнений, специфичных только для данного региона. Выбор приоритетных показателей водного объекта осуществляется учреждениями государственной санитарно-эпидемиологической службы по критериям, информация о которых имеется в распоряжении санитарных врачей региона или может быть получена из материалов обследования источников загрязнения, а также результатов анализов стоков и воды водных объектов.

К таким критериям относятся:

– специфичность вещества для сточных вод, поступающих в водные объекты региона;

– степень превышения ПДК вещества в воде водного объекта;

– класс опасности и лимитирующий признак вредности (характеризуют одновременно кумуляцию, токсичность и способность вещества вызывать отдаленные эффекты);

– канцерогенность;

– частота обнаружения вещества в воде;

– тенденция к росту концентраций вещества в воде при долговременном наблюдении;

– биоразлагаемость;

– степень контакта вещества с населением (по численности населения, использующего водоем как источник питьевого водоснабжения или для рекреационных целей).

Гигиеническая надежность перечня приоритетных показателей повышается, если при его составлении учитываются дополнительные критерии, применение которых требует проведения специальных исследований в научных учреждениях или областных, или республиканских центрах государственного санитарно-эпидемиологического надзора. Исследования включают определение уровней и спектра загрязнения сточных вод с привлечением всех современных методов контроля: хромато-масс-спектрометрии, жидкостной и газовой хроматографии для более полного выявления органических соединений и продуктов их трансформации, атомно-адсорбционной спектрофотометрии для идентификации ионов тяжелых металлов, а также поиск информации о свойствах и биологическом действии веществ в справочных изданиях, в т.ч., выпускаемых ВОЗ, и компьютерных банках данных.

К дополнительным критериям относятся:

– биоаккумуляция;

– стабильность (резистентность);

– трансформация с образованием более токсичных соединений;

– способность к образованию галогенсодержащих соединений при хлорировании;

– способность к накоплению в донных отложениях;

– кожно-резорбтивное действие;

– сравнительная выраженность отдаленных эффектов – канцерогенного, мутагенного, тератогенного, эмбриотоксического, аллергенного и гонадотоксического;

– комплексность воздействия на население из-за способности вещества к межсредовым переходам.

Дополнительные критерии могут применяться выборочно в зависимости от физико-химических характеристик веществ, состава и свойств сточных вод и воды водных объектов, а также условий водопользования населения региона.

Ориентация на приоритетные для данного региона загрязнения позволяет оптимизировать контроль качества воды водных объектов, сократив число определяемых показателей и сосредоточив основное внимание на веществах, действительно представляющих опасность для здоровья населения.

При установлении периодичности наблюдения должны быть учтены наименее благоприятные периоды (межень, паводки, максимальные попуски в водохранилищах и т.п.). Ближайший к месту выпуска сточных вод пункт производственного контроля за сосредоточенным сбросом устанавливается не далее 500 м по течению от места сброса сточных вод на водотоках и в радиусе 500 м от места сброса на акватории – на непроточных водоемах и водохранилищах. При сбросе сточных вод в черте населенных мест указанный пункт контроля должен быть расположен непосредственно у места сброса. В водохранилищах и нижнем бьефе плотины гидроэлектростанции, работающей в резком переменном режиме, при установлении пунктов контроля учитывается возможность воздействия на пункты водопользования обратного течения при смене режима работы или прекращении работы электростанции.

Контроль качества воды в трансграничных водных объектах осуществляется на основе межтерриториальных и международных соглашений с использованием согласованных критериев и методов оценки качества поверхностных вод.

18.6. ВОДНЫЕ ОБЪЕКТЫ РЫБОХОЗЯЙСТВЕННОГО ВОДОПОЛЬЗОВАНИЯ

К рыбохозяйственному водопользованию относится использование водных объектов для обитания, размножения и миграции рыб и других водных организмов. Рыбохозяйственные водные объекты или их участки могут относиться к одной из трех категорий:

– к *высшей категории* относятся места расположения нерестилищ, массового нагула и зимовальных ям особо ценных и ценных видов рыб и других промысловых водных организмов, а также охранные зоны хозяйства любого типа для искусственного разведения и выращивания рыб, других водных животных и растений;

– к *первой категории* относятся водные объекты, используемые для сохранения и воспроизводства ценных видов рыб, обладающих высокой чувствительностью к содержанию кислорода;

– ко *второй категории* относятся водные объекты, используемые для других рыбохозяйственных целей.

Для рыбохозяйственных водоемов используют следующие лимитирующие показатели вредности (ЛПВ): санитарно-токсикологический, общесанитарный, органолептический, токсикологический и рыбохозяйственный[44].

18.7. УСЛОВИЯ ОТВЕДЕНИЯ СТОЧНЫХ ВОД В ПОВЕРХНОСТНЫЕ ВОДНЫЕ ОБЪЕКТЫ

При сбросе сточных вод в водные объекты санитарное состояние водного объекта в расчетном створе считается удовлетворительным, если соблюдается следующие условие:

$$\sum_{1}^{z} \frac{C^{z}_{\text{р.с.}}}{\text{ПДК}_i} \le 1, \qquad (18.1)$$

где $C^{z}_{\text{р.с.}}$ – концентрация i-го вещества в расчетном створе при условии одновременного присутствия z веществ, относящихся к одному и тому же ЛПВ; i – 1, 2, …. z; z – количество веществ с одинаковым ЛПВ; ПДК_i – предельно допустимая концентрация z-го вещества.

Самоочищение водного объекта зависит от условий смешения и разбавления сточных вод природными. Основой для расчета условий отведения сточных вод является уравнение материального баланса:

$$\underbrace{qC_{\text{ст}}}_{\text{ПДС}} + \underbrace{\gamma Q C_{\text{ф}}}_{\text{Фон}} = \underbrace{C_{\text{нр}}(q+\gamma Q)}_{\text{Нормативное состояние водоема}}, \qquad (18.2)$$

[44] Подробнее см. главу 12.

где q и Q – расход сточных и речных вод, м^3/ч; $C_{ст}$ и $C_ф$ концентрации лимитирующего вещества в сбрасываемой нормативно-очищенной сточной воде и в реке выше места выпуска (фоновая концентрация), соответственно, г/м^3; $C_{нр}$ – концентрация в контрольном створе (нормативная), г/м^3; γ – коэффициент смешения, доли единицы.

Коэффициент смешения γ находят по формуле Фролова – Родзиллера-Карташева:

$$\gamma = (1 - e^{-\alpha\sqrt[3]{L_ф}})/(1 + (Q/q)e^{-\alpha\sqrt[3]{L_ф}}), \qquad (18.3)$$

где e – основание натуральных логарифмов; $L_ф$ – расстояние до расчетного створа по фарватеру, м.

Значение α находят по формуле:

$$\alpha = \varphi\xi\sqrt{D/g}, \qquad (18.4)$$

где φ – коэффициент извилистости реки; ξ – коэффициент, зависящий от места выпуска (при береговом выпуске $\xi = 1$, при фарватерном – $\xi = 1.5$); D – коэффициент турбулентной диффузии, м/с.

Коэффициент извилистости реки φ определяется по формуле:

$$\varphi = L_ф / L, \qquad (18.5)$$

где L – длина до расчетного створа по прямой, м.

Коэффициент турбулентной диффузии D находят по формуле:

$$D = gH_{ср}V_{ср}/(\mu \cdot \varepsilon), \quad \varepsilon = R^{1/6}/m, \qquad (18.6)$$

где m – коэффициент шероховатости земляного русла реки (m = 0.03); R – гидравлический радиус ($R = H_ф$), м; $\mu = 0.7\varepsilon + 6$ при $\varepsilon < 60$; $\mu = 48$ при $\varepsilon > 60$, $H_{ср}$ – средняя глубина, $V_{ср}$ – средняя скорость течения, $H_ф$ – глубина фарватера.

Теоретически расстояние от выпуска сточных вод до створа полного смешения равно бесконечности, поэтому значение коэффициента γ, равное 1, на практике не встречается. Для практических расчетов следует определять расстояние до створа достаточно полного смешения, для которого $\gamma = 0.95$ и 0.90, т.е. в котором сточная вода смешивается с 95 и 90% расхода воды реки.

При определении в проточных водоемах кратности разбавления (n) в расчетных створах пользуются формулой:

$$n = (\gamma Q + q)/q \quad \text{или} \quad n = \gamma Q/q + 1. \qquad (18.7)$$

Для непроточных водоемов n может быть рассчитано по формуле:

$$n = (C_{ст} - C_{нр})/(C_{нр} - C_ф). \qquad (18.8)$$

Прогноз санитарного состояния водоема в контрольном створе может быть выполнен при решении уравнения (18.2) относительно $C_{нр}$:

$$C_{\text{нр}} = \frac{qC_{\text{ст}} + \gamma QC_{\text{ф}}}{q + \gamma Q}. \qquad (18.9)$$

При $C_{\text{нр}} \leq$ ПДК – прогноз благоприятный. В случае превышения в контрольном створе концентрации лимитирующего вещества нормативного значения (т.е. ПДК) необходимо принимать меры по очистке сточных вод или снижению их объема.

На основе уравнения баланса (18.2) можно рассчитать концентрацию лимитирующего вещества в сточной воде ($C_{\text{ст}}$). а также его допустимую концентрацию (ДК$_{\text{ст}}$), которая должна отвечать условию $C_{\text{нр}} \leq$ ПДК:

$$C_{\text{ст}} = \frac{C_{\text{нр}}(q + \gamma Q)}{q} - \frac{\gamma QC_{\text{ф}}}{q} =$$
$$= C_{\text{нр}} + \frac{C_{\text{нр}}\gamma Q}{q} - \frac{\gamma Q}{q}C_{\text{ф}} = \frac{\gamma Q}{q}(C_{\text{нр}} - C_{\text{ф}}) + C_{\text{нр}} \qquad (18.10)$$

или для ДК$_{\text{ст}}$:

$$\text{ДК}_{\text{ст}} = \frac{\gamma Q}{q}(\text{ПДК} - C_{\text{ф}}) + \text{ПДК}. \qquad (18.11)$$

Зная величину ДК$_{\text{ст}}$, можно рассчитать необходимую степень очистки (D, %) сточных вод:

$$D = \frac{C_{\text{факт}} - \text{ДК}_{\text{ст}}}{C_{\text{факт}}} \cdot 100\%. \qquad (18.12)$$

В литературе (Экология… 1999) можно встретить другую формулу для расчета $C_{\text{ст}}$:

$$C_{\text{ст}} = (n-1)(C_{\text{нр}} - C_{\text{ф}}) + C_{\text{нр}}, \qquad (18.13)$$

которая легко выводится из формулы (18.10). Если учесть, что $n = (\gamma Q / q) + 1$, то $(\gamma Q / q) = n - 1$.

Если в воде присутствует один вид загрязнений, то $C_{\text{нр}}$ = ПДК. При числе загрязняющих веществ больше единицы значение $C_{\text{нр}}$ определяется по формуле (18.9):

$$\left(\frac{C_1}{\text{ПДК}_1} + \frac{C_2}{\text{ПДК}_2} \cdots \frac{C_n}{\text{ПДК}_n}\right) \leq 1,$$

где C_1, $C_2 \ldots C_n$ – допустимые концентрации загрязняющих веществ в сточных водах, г/м^3; ПДК$_1$, ПДК$_2$...ПДК$_n$ – ПДК этих веществ в воде водоема, г/м^3.

18.8. МЕТОД КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД ПО ГИДРОХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ[45]

Рассматриваемый в настоящем разделе метод *комплексной оценки степени загрязненности* позволяет однозначно скалярной величиной оценить загрязненность воды одновременно по широкому перечню ингредиентов и показателей качества воды, классифицировать воду по степени загрязненности, подготовить аналитическую информацию для представления государственным органам и заинтересованным организациям в удобной, доступной для понимания, научно обоснованной форме. Метод расчета комплексных показателей дает возможность формализовать процессы анализа, обобщения, оценки аналитической информации о химическом составе воды и трансформировать ее в относительные показатели, комплексно оценивающие степень загрязненности и качество воды водных объектов. Для комплексной оценки загрязненности поверхностных вод используют результаты режимных наблюдений за состоянием воды водных объектов. Применительно к условиям и данным режимного мониторинга для объективного установления качества воды водных объектов и достоверного определения степени их загрязненности используют сочетание дифференцированного и комплексного способов оценки.

Целесообразность использования комплексной оценки определяется широтой спектра загрязнения водных объектов и степенью загрязненности воды. Методической основой комплексного способа является однозначная оценка степени загрязненности воды водного объекта *по совокупности* загрязняющих веществ:

- для любого водного объекта в точке отбора проб воды;
- за любой определенный промежуток времени;
- по любому набору гидрохимических показателей.

В качестве норматива используют наиболее жесткие (минимальные) значения из совмещенных списков, допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ для воды рыбохозяйственных водоемов, а также водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. Для веществ, на которые нормативными документами предусмотрено их полное отсутствие в воде водных объектов, в качестве ПДК условно принимается 0,01 мкг/дм^3. Конструктивной особенностью метода комплексной оценки степени загрязненности поверхностных вод по гидрохимическим показателям является проведение на первом этапе детального покомпонентного анализа химического состава воды и режима его оценочных составляющих и последующее использование полученных оценочных составляющих на втором этапе для одновременного учета комплекса наблюдаемых ингредиентов и показателей качества воды. Уровень загрязненности воды данного водного объекта в конкретном пункте наблюдений, определяемый через относительную характеристику, рассчитанную по реальным концентрациям совокупности загрязняющих веществ и соответствующим им нормативам, является первым составным элементом метода комплексной оценки. Частота обнаружения

[45] Раздел написан на основе РД 52.24.643-2002.

концентраций, превышающих нормативы, являющаяся косвенной оценкой продолжительности загрязнения воды, также характеризует меру воздействия загрязняющих веществ на качество водной среды и является следующим составным элементом рекомендуемого метода оценки. Сочетание уровня загрязненности воды определенными загрязняющими веществами и частоты обнаружения случаев нарушения нормативных требований позволяет получить комплексные характеристики, условно соответствующие «долям» загрязненности, вносимым каждым ингредиентом, и показателем загрязненности в общее качество воды. Вклад отдельных загрязняющих веществ в общую загрязненность воды водных объектов в реальных условиях может определяться либо высокими концентрациями, наблюдаемыми в течение короткого промежутка времени, либо низкими концентрациями в течение длительного периода, либо другими возможными комбинациями рассматриваемых факторов оценки, учет которых должен вестись не параллельно по двум самостоятельным характеристикам, а одновременно через обобщенный показатель. Качество воды водных объектов есть функция не только отдельных показателей химического состава воды, продолжительности, меры воздействия каждого из них и различных комбинаций этих оценочных характеристик, но также перечня и количества учитываемых в комплексной оценке загрязняющих веществ. Принимая условие аддитивности действия токсических веществ при их одновременном присутствии, окончательный комплексный показатель качества воды определяется суммированием отдельных показателей, оценивающих вклад каждого загрязняющего вещества в отдельности.

Основой *дифференцированного способа* является оценка качества воды водных объектов по отдельным загрязняющим веществам с использованием статистических приемов.

18.8.1. СИСТЕМА ФОРМАЛИЗОВАННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ

Для проведения комплексной оценки рассчитывается набор формализованных характеристик из двух групп оценочных показателей – *промежуточных* и *основных комплексных*, приведённых в табл. 18.2.

Большинство показателей, входящих в группу *промежуточных*, общеизвестны и используются для дальнейших расчетов основных показателей и коэффициента запаса. *Основные показатели* служат для комплексной оценки степени загрязненности воды водных объектов. Оценивание качества воды может проводиться как с применением всего набора показателей, так и отдельных их групп, либо единичных характеристик. Помимо численных значений для оценки употребляются и соответствующие им качественные словесные характеристики.

Наиболее информативными комплексными оценками, получаемыми по данному методу, являются *удельный комбинаторный индекс загрязненности воды (УКИЗВ*) и *класс качества воды*.

Таблица 18.2

Перечень расчетных оценочных показателей степени загрязненности поверхностных вод

Характеристика информации, отражаемой показателем	Расчетные оценочные показатели	
	Промежуточные	**Основные комплексные**
По каждому ингредиенту для одного результата анализа	Кратность превышения 1 ПДК	
	Кратность превышения концентраций, соответствующих ВЗ	
	Кратность превышения концентраций, соответствующих ЭВЗ	
По каждому ингредиенту для всех результатов анализа за оцениваемый период времени	Средняя кратность превышения 1 ПДК для проб, в которых оно обнаружено	Частные оценочные баллы по кратности превышения ПДК
	Повторяемость случаев превышения 1 ПДК	Частные оценочные баллы по повторяемости случаев превышения ПДК
	Среднегодовая концентрация	Обобщенные оценочные баллы
По комплексу ингредиентов за оцениваемый период времени	Общее число ингредиентов, учитываемых в оценке качества воды	Коэффициент комплексности загрязненности воды
	Число ингредиентов, по которым наблюдается нарушение нормативных требований	Коэффициент комплексности высокого и экстремально высокого уровней загрязненности воды
	Коэффициент запаса	Критические показатели загрязненности воды (число и перечень)
		Комбинаторный индекс загрязненности воды
		Удельный комбинаторный индекс загрязненности воды
		Класс качества воды

УКИЗВ – относительный комплексный показатель степени загрязненности поверхностных вод. Условно оценивает в виде безразмерного числа долю загрязняющего эффекта, вносимого в общую степень загрязненности воды, обусловленную одновременным присутствием ряда загрязняющих веществ, в среднем одним из учтенных при расчете комбинаторного индекса ингредиентов и показателей качества воды. Позволяет проводить сравнение степени загрязненности воды в различных створах и пунктах при условии различия программы наблюдений. Значение УКИЗВ может варьировать в водах различной степени загрязненности от 1 до 16. Большему значению индекса соответствует худшее качество воды в различных створах, пунктах и т.д.

Классификация качества воды водных объектов позволяет условно разделить весь диапазон состава и свойств воды водных объектов в условиях антропогенного воздействия на различные классы качества для конкретных видов водопользования.

В зависимости от степени загрязненности поверхностных вод, на основе значений УКИЗВ их делят на 5 классов:

1-й класс – условно чистая;

2-й класс – слабо загрязненная;

3-й класс – загрязненная;

4-й класс – грязная;

5-й класс – экстремально грязная.

При этом большей степени загрязненности воды комплексом загрязняющих веществ соответствует больший номер класса.

18.8.2. ТРЕБОВАНИЯ К ИСХОДНОЙ ИНФОРМАЦИИ

В качестве исходной информации используются результаты химического анализа проб воды в точке отбора. Расчет комплексных показателей проводится по результатам наблюдений за загрязненностью воды рек и водоемов, выполненных по единым методикам в лабораториях оперативно-производственных подразделений Управления по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (УГМС) Росгидромета. Это позволяет исключить влияние различий в результатах анализа, связанных с использованием разных методов определения отдельных ингредиентов. При необходимости можно использовать данные о химическом составе воды, полученные в других ведомствах, а также результаты каких-либо специальных наблюдений, проведенных научными, производственными и другими организациями. Однако непременным условием их использования является единая методологическая основа проведения отбора проб и химического анализа воды. Должна быть обеспечена сопоставимость исходных данных по количеству информации по каждому показателю, числу используемых показателей, их перечню, точности исходной информации и требуемой точности ожидаемых результатов. Перед началом расчетов определяют перечень ингредиентов и показателей, на основании которого рассчитываются комплексные показатели. Для подготовки информационных материалов рекомендуется пользоваться тремя перечнями, приведенными ниже.

Перечни ингредиентов и показателей качества воды для расчета комплексных оценок

Обязательный перечень № 1

1. Растворенный в воде кислород.
2. $БПК_5(O_2)$.
3. ХПК.
4. Фенолы.
5. Нефтепродукты.
6. Нитрит-ионы (NO_2).
7. Нитрат-ионы (NO_3).
8. Аммоний-ион (NH_4^+).
9. Железо общее.

10. Медь (Cu^{2+}).
11. Цинк (Zn^{2+}).
12. Никель (Ni^{2+}).
13. Марганец (Mn^{2+}).
14. Хлориды.
15. Сульфаты.

Обязательный перечень № 1. Используется при подготовке информационных материалов для административных органов. Он включает в себя 15 загрязняющих веществ, наиболее характерных для большинства поверхностных вод всей территории Российской Федерации. Расчет комплексных оценочных показателей по единому списку обеспечит корректность проведения сравнения качества поверхностных вод в территориальном аспекте как при оценке состояния загрязненности воды за любой временной промежуток, так и при определении любых его изменений.

Рекомендуемый перечень № 2. Используется при расчете УКИЗВ для тех створов и пунктов, где есть необходимость помимо веществ, указанных в обязательном перечне, учесть специфические загрязняющие вещества, которые характерны для определенных водных объектов и имеют локальное распространение. К специфическим загрязняющим веществам могут относиться ртуть, кадмий, свинец, мышьяк, бор, фтор, алюминий, формальдегид, анилин, метилмеркаптан, сульфиды и сероводород, хлор- и фосфорорганические пестициды и др.

Свободный перечень № 3. Включает в себя те ингредиенты, которые важны для водопользователя при проведении отдельных научно-исследовательских работ или решении производственных задач.

В расчете комплексных показателей используют только нормируемые ингредиенты и показатели состава и свойств воды водного объекта. При выполнении специальных заказов выбор перечня ингредиентов и показателей проводится в зависимости от цели оценки, наличия результатов химического анализа воды и с учетом программы наблюдений. Количество учитываемых показателей регламентируется поставленными целями оценки, с учетом программы наблюдений, а также наличием данных о химическом составе поверхностных вод. Нижний предел количества учитываемых ингредиентов определяется их минимальным числом, достаточным для характеристики качества исследуемой воды по всем лимитирующим показателям вредности. Верхний предел количества учитываемых ингредиентов не ограничивается. Оптимальное число учитываемых в процессе оценки ингредиентов может составлять от 10 до 25. Достаточность объема исходной информации определяется исходя из требуемой точности оценки, длительности оцениваемого временного интервала. По каждому ингредиенту проверяется наличие информации в необходимом объеме. Последний определяется изменчивостью ингредиентов в период обобщения, которая в свою очередь зависит от скорости превращения веществ, условий разбавления сточных вод речными и других факторов, а также требует знания особенностей формирования химического состава воды водного объекта и поведения интересующих веществ. Перечисленное учитывается при установлении категории пункта стационарных наблюдений. Кате-

горией пункта определяется и объем сведений о химическом составе воды. Минимальное количество данных – 4 пробы в течение года или одна проба в квартал (в гидрологическую фазу); максимальное количество данных не ограничивается. По каждому учитываемому ингредиенту или показателю загрязненности ряд наблюдений проверяется на «характерность», «типичность» данных. Концентрации, соответствующие уровням высокого загрязнения и экстремально высокого загрязнения, в расчеты включают при условии надежности получения этих данных. При проведении расчетов комплексных показателей с целью сравнительной оценки качества воды в различных пунктах наблюдений, на различных участках водных объектов, либо различных водных объектах используются материалы равной репрезентативности, т.е. должны быть идентичными перечень учитываемых ингредиентов, число взятых для рассмотрения результатов анализа, их полнота, распределение в течение рассматриваемого периода времени и т.д.

18.8.3. ТЕХНИКА РАСЧЕТА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ

С помощью *коэффициента комплексности* загрязненности воды оценивается комплексность загрязненности воды в пробе, створе, пункте, водотоке и т.д., под которым понимают относительный косвенный показатель степени загрязненности поверхностных вод, выражаемый в процентах и изменяющийся от 1 до 100% при ухудшении качества воды. Расчет значения коэффициента комплексности загрязненности воды K проводится сначала для каждого результата анализа по формуле:

$$K_{fj} = \frac{N'_{fj}}{N_{fj}} \cdot 100\%, \qquad (18.14)$$

где K_{fj} – коэффициент комплексности загрязненности воды в f-м результате анализа для j-го створа; N'_{fj} – количество нормируемых ингредиентов и показателей качества воды, содержание или значение которых превышает соответствующие им ПДК в f-м результате анализа для j-го створа; N_{fj} – общее количество нормируемых ингредиентов и показателей качества воды, определенных в f-м результате анализа для j-го створа.

Оцениваемый временной интервал характеризуется средним значением коэффициента комплексности K_j:

$$K_j = \frac{\sum_{f=1}^{n_{kj}} K_{fj}}{n_{kj}}, \qquad (18.15)$$

где n_{kj} – число результатов химического анализа воды, для которых рассчитаны значения коэффициента комплексности в j-м створе за k-й период времени.

Для учета распространенности случаев высокого и экстремально высокого уровней загрязнения проводятся аналогичные расчеты коэффициентов ком-

плексности загрязненности воды по значениям концентраций, соответствующих высокому и экстремально высокому уровням загрязнения (табл. 18.3).

Расчет коэффициента комплексности высокого уровня загрязнения воды осуществляется по формуле:

$$K_{\text{ВЗ}fj} = \frac{N'_{\text{ВЗ}fj}}{N_{fj}} \cdot 100\%, \qquad (18.16)$$

где $K_{\text{ВЗ}fj}$ – коэффициент комплексности высокого уровня загрязнения воды для f-го результата химического анализа в j-м створе; $N'_{\text{ВЗ}fj}$ – количество нормируемых ингредиентов и показателей качества воды, содержание или значение которых превышает соответствующие им критерии высокого загрязнения.

Таблица 18.3

Критерии определения высокого и экстремально высокого уровней загрязненности воды водных объектов по гидрохимическим показателям*

Ингредиенты и показатели качества воды	Кратность превышения ПДК для случаев	
	высокого загрязнения	экстремально высокого загрязнения
1–2-го классов опасности	[3; 5)	≥ 5
3–4-го классов опасности, кроме нефтепродуктов, фенолов, меди, железа общего	[10; 50)	≥ 50
4-го класса опасности – нефтепродукты, фенолы, медь, железо общее	[30; 50)	≥ 50

* Для растворенного в воде кислорода в случае высокого уровня загрязненности его содержание составляет 3 мг/дм^3 и менее, в случае экстремально высокого уровня – 2 мг/дм^3 и менее; для БПК^3 воды в случае высокого уровня загрязненности оно составляет 10 мг/дм^3 и более, в случае экстремально высокого уровня – 40 мг/дм^3 и более.

Примечание. Здесь и далее интервалы обозначают следующим образом: число слева – начало интервала; число справа – конец интервала; круглая скобка показывает, что стоящее при ней значение в интервал не входит; квадратная скобка – значение входит.

Коэффициент комплексности загрязненности воды используется непосредственно при интерпретации результатов расчета для характеристики водного объекта. Он является очень простой, но в тоже время вполне достоверной характеристикой антропогенного воздействия на качество воды. Чем больше значение K, тем большая комплексность загрязненности присуща воде, тем хуже ее качество и тем большее влияние на формирование качества воды оказывает антропогенный фактор. Увеличение коэффициента комплексности загрязненности свидетельствует о появлении новых загрязняющих веществ в воде анализируемого водного объекта. Рост значений $K_{\text{ВЗ}}$ и $K_{\text{ЭВЗ}}$ указывает как на то, что превышение ПДК наблюдается по более широкому перечню ингредиентов, так и на то, что уровень его весьма значителен. Абсолютные значения K, $K_{\text{ВЗ}}$ и $K_{\text{ЭВЗ}}$ могут применяться для анализа современного состояния загрязненности воды водных объектов, выявления тенденции его изменения в многолетнем плане и для сравнения между собой уровней загрязнения воды различных водных объектов. При использовании коэффициента K для сравнения степени загрязненности воды водных объектов необходимо соблю-

дать условие практического равенства числа учитываемых в расчете коэффициента ингредиентов и показателей загрязненности. Допускаемая при этом разница не должна превышать 30%. Коэффициенты комплексности загрязненности могут применяться как самостоятельно, так и в сочетании с другими оценками излагаемого метода. По значению условного коэффициента комплексности для одного значения ПДК (1 ПДК) выбирается метод оценки степени загрязненности воды водного объекта. Если обнаруживается незначительная комплексность загрязненности воды водного объекта (K < 10%), обусловленная загрязнением единичными ингредиентами, то проводится подробное дифференцированное их обследование. При обнаружении более высокой комплексности ($K \geq 10\%$) применяется метод комплексной оценки качества воды по значению комбинаторного индекса загрязненности воды. На основе коэффициентов в K, $K_{ВЗ}$ и $K_{ЭВЗ}$ выделяются категории воды водных объектов по комплексности загрязненности (табл. 18.4).

Таблица 18.4

Категории воды водных объектов по значениям коэффициентов комплексности загрязненности воды водного объекта

Комплексность загрязненности воды водных объектов				Категория воды
***K*, %**	**Характеристика информации о загрязненности воды**	**$K_{ВЗ}$($K_{ЭВЗ}$), %**	**Характеристика высокого (экстремально высокого) уровня загрязненности воды**	
(0; 10]	По единичным ингредиентам и показателям качества воды	(0; 5]	Высокий (экстремально высокий) уровень загрязненности по единичным ингредиентам и показателям качества воды	I
(10; 40]	По нескольким ингредиентам и показателям качества воды	(5; 20]	Высокий (экстремально высокий) уровень загрязненности по нескольким ингредиентам и показателям качества воды	II
(40; 100]	По комплексу ингредиентов и показателей качества воды	(20; 100]	Высокий (экстремально высокий) уровень загрязненности по комплексу ингредиентов и показателей качества воды	III

Водные объекты, для воды которых значения $K_{ВЗ}$ соответствуют II и III категориям загрязненности воды, а значения $K_{ЭВЗ}$ – I, II и III категориям, целесообразно использовать при подготовке «Приоритетные списки водных объектов, требующих первоочередного осуществления водоохранных мероприятий». Категории воды, определенные по K, $K_{ВЗ}$ и $K_{ЭВЗ}$, имеют различный и физический смысл, поэтому пользоваться ими следует параллельно. Эти характеристики взаимно дополняют друг друга. В случае если категории не совпадают, качество воды надо рассматривать с разных сторон – в режиме хронического загрязнения, наблюдаемого большую часть времени года по K, и дополнительно в режиме «аварийных» либо «чрезвычайных ситуаций» по $K_{ВЗ}$ и $K_{ЭВЗ}$.

18.8.4. КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ ВОДЫ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ С ПОМОЩЬЮ КОМБИНАТОРНОГО ИНДЕКСА ЗАГРЯЗНЕННОСТИ ВОДЫ

С помощью *комбинаторного индекса загрязненности воды* оценивается степень ее загрязненности по комплексу загрязняющих веществ, устанавливается класс качества воды.

Комбинаторный индекс загрязненности воды *– это относительный комплексный показатель степени загрязненности поверхностных вод. Выражается безразмерной величиной. Условно оценивает загрязненность воды водного объекта комплексом загрязняющих веществ, относительно учитывает различные комбинации концентраций загрязняющих веществ в условиях их одновременного присутствия. Может определяться по любому числу и перечню ингредиентов. Обязательным условием является наличие для этих ингредиентов предельно допустимых либо любых других нормативных значений концентраций.*

Комбинаторный индекс загрязненности воды может рассчитываться для любого створа либо пункта наблюдений за состоянием поверхностных вод, для участка либо акватории водного объекта, для водных объектов в целом, речных бассейнов, гидрографических районов и т.д. По мере укрупнения объекта изучения возрастает относительность расчетных характеристик. Это обстоятельство относится не столько к комбинаторному индексу, сколько к любому из показателей, характеризующих однозначно сложные и крупномасштабные природные системы. Однако, несмотря на это, их информативность и репрезентативность при наличии достаточного объема информации высока.

До начала расчетов устанавливается период обобщения информации, зависящий от целей оценки и достаточности объема исходных данных. Комбинаторный индекс загрязненности воды может рассчитываться для любого периода времени: суток, декады, месяца, квартала, гидрологического сезона, полугодия, года, любого многолетнего периода при наличии достаточного числа проб.

Расчет значения комбинаторного индекса загрязненности и относительная оценка качества воды проводятся в 2 этапа: сначала по каждому изучаемому ингредиенту и показателю загрязненности воды, затем рассматривается одновременно весь комплекс загрязняющих веществ и выводится результирующая оценка.

По каждому ингредиенту за расчетный период времени для выбранного объекта исследований определяются следующие характеристики:

1. Повторяемость случаев загрязненности α_{ij}, т.е. частота обнаружения концентраций, превышающих ПДК:

$$\alpha_{ij} = \frac{n'_{ij}}{n_{ij}} \cdot 100\%, \qquad (18.17)$$

где n'_{ij} – число результатов анализа по i-му ингредиенту в j-м створе за рассматриваемый период времени, в которых содержание или значение их превышает соответствующие ПДК; n_{ij} – общее число результатов химического анализа за рассматриваемый период времени по i-му ингредиенту в j-м створе.

По значению повторяемости определяют характер загрязненности воды по устойчивости загрязнения и устанавливают частный оценочный балл по повторяемости (табл. 18.5).

Таблица 18.5

Классификация воды водных объектов по повторяемости случаев загрязненности

Повторяемость,%	Характеристика загрязненности воды	Частный оценочный балл по повторяемости $S_{\alpha_{ij}}$	Доля частного оценочного балла, приходящаяся на 1% повторяемости
[1*; 10)	Единичная	[1; 2)	0,11
[10; 30)	Неустойчивая	[2; 3)	0,05
[30; 50)	Устойчивая	[3; 4)	0,05
[50; 100)	Характерная	4	–

* При значениях повторяемости меньше единицы принимаем $S_{\alpha_{ij}} = 0$.

2. Среднее значение кратности превышения ПДК $\overline{\beta}_{ij}$, рассчитанное только по результатам анализа проб, где такое превышение наблюдается. Результаты анализа проб, в которых концентрация загрязняющего вещества была ниже ПДК, в расчет не включают. Расчет ведется по формуле:

$$\overline{\beta}'_{ij} = \frac{\sum_{f=1}^{n'_{ij}} \beta_{ifj}}{n'_{ij}}, \qquad (18.18)$$

где $\beta_{ifj} = C_{ifj} / \text{ПДК}_i$ – кратность превышения ПДК[46] по *i*-му ингредиенту в *f*-м результате химического анализа для *j*-го створа; C_{ifj} – концентрация *i*-го ингредиента в *f*-м результате химического анализа для *j*-го створа, мг/дм^3.

По значению кратности превышения ПДК определяют уровень загрязненности воды (табл. 18.6). По значению средней кратности превышения ПДК $\overline{\beta}'_{ij}$ и данным таблицы 18.6 рассчитывается частный оценочный балл по кратности превышения $S_{\beta'_{ij}}$. Определение баллов проводится с применением линейной интерполяции.

3. Обобщенный оценочный балл S_{ij} по каждому ингредиенту. Он рассчитывается как произведение частных оценочных баллов по повторяемости случаев загрязненности и средней кратности превышения ПДК:

$$S_{ij} = S_{\alpha_{ij}} \times S_{\beta_{ij}}, \qquad (18.19)$$

где $S_{\alpha_{ij}}$ – частный оценочный балл по повторяемости случаев загрязненности *i*-м ингредиентом в *j*-м створе за рассматриваемый период времени; $S_{\beta_{ij}}$ – частный оценочный балл по кратности превышения ПДК *i*-го ингредиента в *j*-м створе за рассматриваемый период времени.

---

[46] Определение кратности нарушения норматива для растворенного в воде кислорода осуществляется по формуле $\beta_{O_2 fj} = \text{ПДК}_{O_2} / C_{O_2 fj}$.

Таблица 18.6

Классификация воды водных объектов по кратности превышения ПДК

Кратность превышения ПДК	Характеристика уровня загрязненности	Частный оценочный балл по кратности превышения ПДК $S_{\beta_{ij}}$	Доля частного оценочного балла, приходящаяся на единицу кратности превышения ПДК
(1; 2)	Низкий	[1; 2)	1,00
[2; 10)*	Средний	[2; 3)	0,125
[10; 50)**	Высокий	[3; 4)	0,025
[50; ∞]	Экстремально высокий	4	0,025

Примечание. Для растворенного в воде кислорода используют следующие условные градации кратности уровня загрязненности: (1; 1,5] – низкий; (1,5; 2] – средний; (2; 3] – высокий; (3; ∞] – экстремально высокий. Если концентрация растворенного в воде кислорода в пробе равна 0, для расчета условно принимаем ее равной 0,01 мг/дм^3.

* Указанные значения кратности соответствуют ситуациям на водном объекте, характеризуемым как «высокое загрязнение» для большинства веществ 3–4–го классов опасности. Для тех загрязняющих веществ, у которых критерий высокого загрязнения отличен от 10, число 10 должно быть заменено критериями высокого загрязнения, определяемыми в соответствии с табл. 18.3

** Указанные значения кратности соответствуют ситуациям на водном объекте, характеризуемым как «экстремально высокое загрязнение» для большинства веществ 3–4–го классов опасности. Для тех загрязняющих веществ, у которых критерий экстремально высокого загрязнения отличен от 50, число 50 должно быть заменено критериями экстремально высокого загрязнения, определяемыми в соответствии с табл. 18.3.

Обобщенный оценочный балл дает возможность учесть одновременно значения наблюдаемых концентраций и частоту обнаружения случаев превышения ПДК по каждому ингредиенту. Значение обобщенного оценочного балла по каждому ингредиенту в отдельности может колебаться для различных вод от 1 до 16. Большему его значению соответствует более высокая степень загрязненности воды.

С помощью обобщенного оценочного балла определяют *комбинаторный и удельный комбинаторный индекс* загрязненности воды.

Определение комбинаторного индекса загрязненности воды производится по формуле:

$$S_j = \sum_{i=1}^{N_j} S_{ij} \ , \qquad (18.20)$$

где S_{ij} – обобщенный оценочный балл S_{ij} по каждому ингредиенту; N_j – число учитываемых в оценке ингредиентов.

Под *удельным комбинаторным индексом* понимают относительный комплексный показатель степени загрязненности поверхностных вод. Условно оценивает в виде безразмерного числа долю загрязняющего эффекта, вносимого в общую степень загрязненности воды, обусловленную одновременным присутствием ряда загрязняющих веществ, в среднем одним из учтенных при расчете комбинаторного индекса ингредиентов и показателей качества воды. Позволяет проводить сравнение степени загрязненности воды в различных створах и пунктах при условии различия программы наблюдений.

Удельный комбинаторный индекс определяют по формуле:

$$S'_j = S_j / N_j, \qquad (18.21)$$

где S_j – комбинаторный индекс загрязненности воды в j-м створе; N_j – число учитываемых в оценке ингредиентов.

Удельный комбинаторный индекс загрязненности воды также используется для оценки уровня загрязненности и является весьма удобной и показательной характеристикой. Его использование обязательно, если расчеты проводили по разному числу ингредиентов.

18.8.5. ВЫДЕЛЕНИЕ КРИТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ ВОДЫ

Критическим показателем загрязненности считается такой показатель, для которого $S_{ij} \geq 9$, т.е. когда наблюдается устойчивая либо характерная загрязненность высокого или экстремально высокого уровней загрязненности и вода по своему качеству оценивается как «очень грязная» и «экстремально грязная».

Для анализа состояния загрязненности используется перечень и число *критических показателей загрязненности* (КПЗ) *воды F*, под которыми понимают ингредиенты или показатели загрязненности воды, которые обусловливают перевод воды по степени загрязненности в классы «очень грязная» и «экстремально грязная» на основании значения рассчитываемого по каждому ингредиенту оценочного балла, учитывающего одновременно значения наблюдаемых концентраций и частоту их обнаружения.

Классификация качества воды по степени загрязненности осуществляется с учетом следующих данных: комбинаторного индекса загрязненности воды, числа КПЗ воды, коэффициента запаса, количества учтенных в оценке ингредиентов и показателей загрязненности.

Коэффициент запаса k рассчитывается по формуле $k = 1 - 0{,}1\,F$,
где F – число критических показателей загрязненности воды.

Коэффициент запаса k вводится далее в градации классов качества воды дополнительно к комбинаторному индексу загрязненности воды для ужесточения оценки в случае обнаружения концентраций, близких или достигающих уровней высокого или экстремально высокого загрязнения. Его значение уменьшается с увеличением числа КПЗ: от единицы при отсутствии КПЗ до 0,9 при одном КПЗ и т.д.

Коэффициент запаса рассчитывается при $F \leq 5$. Определение классов качества воды проводится на основе произведения указанных величин и последующего подбора соответствующей ему градации класса следующей классификации:

1-й класс	$1N_j \cdot k$	– условно чистая;
2-й класс	$(1 \cdot N_j \cdot k;\ 2 \cdot N_j \cdot k]$	– слабо загрязненная;
3-й класс	$(2 \cdot N_j \cdot k;\ 4 \cdot N_j \cdot k]$	– загрязненная;
разряд «а»	$(2 \cdot N_j \cdot k;\ 3 \cdot N_j \cdot k]$	– загрязненная;
разряд «б»	$(3 \cdot N_j \cdot k;\ 4 \cdot N_j \cdot k]$	– очень загрязненная;
4-й класс	$(4 \cdot N_j \cdot k;\ 11 \cdot N_j \cdot k]$	– грязная;
разряд «а»	$(4 \cdot N_j \cdot k;\ 6 \cdot N_j \cdot k]$	– грязная;

разряд «б»	$(6\cdot N_j\cdot k;\ 8\cdot N_j\cdot k]$	– грязная;
разряд «в»	$(8\cdot N_j\cdot k;\ 10\cdot N_j\cdot k]$	– очень грязная;
разряд «г»	$(10\cdot N_j\cdot k;\ 11\cdot N_j\cdot k]$	– очень грязная;
5-й класс	$(11\cdot N_j\cdot k;\ \infty]$	– экстремально грязная.

Число учитываемых ингредиентов, или показателей загрязненности воды, вводится в градации классов с целью достижения независимости установления класса качества воды от этой величины. Для более детальной оценки качества воды 3-й и 4-й классы разбиты соответственно на 2 и 4 разряда. В случае когда $F \geq 6$ и $k \leq 0{,}4$, воду без расчетов относят к 5-му классу и оценивают как «экстремально грязная».

В практической работе для определения класса качества воды рекомендуется использовать рабочие формы классификации, условное разделение воды на классы и разряды по степени загрязненности (табл. 18.7, 18.8).

Таблица 18.7

Классификация качества воды водотоков по значению комбинаторного индекса загрязненности воды

Класс	Характеристика состояния загрязненности воды	Комбинаторный индекс загрязненности воды					
		без учета числа КПЗ	в зависимости от числа учитываемых КПЗ				
			1 (k = 0,9)	2 (k = 0,8)	3 (k = 0,7)	4 (k = 0,6)	5 (k = 0,5)
1-й	Условно чистая	$1N_j$	$0{,}9N_j$	$0{,}8N_j$	$0{,}7N_j$	$0{,}6N_j$	$0{,}5N_j$
2-й	Слабо-загрязненная	$(1N_j;\ 2N_j]$	$(0{,}9N_j;\ 1{,}8N_j]$	$(0{,}8N_j;\ 1{,}6N_j]$	$(0{,}7N_j;\ 1{,}4N_j]$	$(0{,}6N_j;\ 1{,}2N_j]$	$(0{,}5N_j;\ 1{,}0N_j]$
3-й	Загрязненная	$(2N_j;\ 4N_j]$	$(1{,}8N_j;\ 3{,}6N_j]$	$(1{,}6N_j;\ 3{,}2N_j]$	$(1{,}4N_j;\ 2{,}8N_j]$	$(1{,}2N_j;\ 2{,}4N_j]$	$(1{,}0N_j;\ 2{,}0N_j]$
4-й	Грязная	$(4N_j;\ 1N_j]$	$(3{,}6N_j;\ 9{,}9N_j]$	$(3{,}2N_j;\ 8{,}8N_j]$	$(2{,}8N_j;\ 7{,}7N_j]$	$(2{,}4N_j;\ 6{,}6N_j]$	$(2{,}0N_j;\ 5{,}5N_j]$
5-й	Экстремально грязная	$(11\ N_j;\ \infty]$	$(9{,}9\ N_j;\ \infty]$	$(8{,}8\ N_j;\ \infty]$	$(7{,}7\ N_j;\ \infty]$	$(6{,}6\ N_j;\ \infty]$	$(5{,}5\ N_j;\ \infty]$

Таблица 18.8

Классификация качества воды водотоков по значению удельного комбинаторного индекса загрязненности воды

Класс и разряд	Характеристика состояния загрязненности воды	Удельный комбинаторный индекс загрязненности воды					
		без учета числа КПЗ	в зависимости от числа учитываемых КПЗ				
			1 (k = 0,9)	2 (k = 0,8)	3 (k = 0,7)	4 (k = 0,6)	5 (k = 0,5)
1-й	Условно чистая	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5
2-й	Слабозагрязненная	(1; 2]	(0,9; 1,8]	(0,8; 1,6]	(0,7; 1,4]	(0,6; 1,2]	(0,5; 1,0]
3-й	Загрязненная	(2; 4]	(1,8; 3,6]	(1,6; 3,2]	(1,4; 2,8]	(1,2; 2,4]	(1,0; 2,0]
разряд «а»	загрязненная	(2; 3]	(1,8; 2,7]	(1,6; 2,4]	(1,4; 2,1]	(1,2; 1,8]	(1,0; 1,5]
разряд «б»	очень загрязненная	(3; 4]	(2,7; 3,6]	(2,4; 3,2]	(2,1; 2,8]	(1,8; 2,4]	(1,5; 2,0]
4-й	Грязная	(4; 11]	(3,6; 9,9]	(3,2; 8,8]	(2,8; 7,7]	(2,4; 6,6]	(2,0; 5,5]
разряд «а»	грязная	(4; 6]	(3,6; 5,4]	(3,2; 4,8]	(2,8; 4,2]	(2,4; 3,6]	(2,0; 3,0]
разряд «б»	грязная	(6; 8]	(5,4; 7,2]	(4,8; 6,4]	(4,2; 5,6]	(3,6; 4,8]	(3,0; 4,0]
разряд «в»	очень грязная	(8; 10]	(7,2; 9,0]	(6,4; 8,0)	(5,6; 7,0]	(4,8; 6,0]	(4,0; 5,0]
разряд «г»	очень грязная	(8; 11]	(9,0; 9,9]	(8,0; 8,8]	(7,0; 7,7]	(6,0; 6,6]	(5,0; 5,5]
5-й	Экстремально грязная	(11; ∞]	(9,9; ∞]	(8,8; ∞]	(7,7; ∞]	(6,6; ∞]	(5,5; ∞]

18.8.6. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ МЕТОДА КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ

Метод комплексной оценки разработан для обобщения материалов наблюдений за качеством поверхностных вод, получаемых в системе Государственной службы наблюдений за загрязнением водных объектов. Методика комплексной оценки степени загрязненности воды водных объектов может быть использована как в целом, так и по отдельным ее смысловым звеньям. Комбинаторный и удельный комбинаторный индексы загрязненности воды используются для однозначной оценки степени загрязненности воды водных объектов комплексом загрязняющих веществ в цифровом выражении. Росту степени загрязненности воды соответствует увеличение значений индексов. Классы качества воды, их качественные (словесные) характеристики используют для однозначной качественной оценки степени загрязненности воды водных объектов комплексом учитываемых ингредиентов и показателей качества воды.

В качестве оценочных показателей для смыслового анализа загрязненности воды целесообразно использовать частные оценочные баллы отдельных загрязняющих веществ по кратности превышения ПДК $S_{\beta_{ij}}$, повторяемости случаев загрязненности $S_{\alpha_{ij}}$ и соответствующие им качественные характеристики загрязненности.

Примеры.

1) $S_{\alpha_{\text{ф}}} = 1{,}22$ – наблюдается единичная загрязненность фенолами.

2) $S_{\beta_{\text{н}}} = 3{,}47$ – имеет место высокий уровень загрязненности нефтепродуктами.

Более комплексную оценку дают обобщенные оценочные баллы.

Примеры.

1) $S_{\text{нфпр}} = 11{,}4$ – обнаруживается устойчивая загрязненность нефтепродуктами высокого уровня.

2) $S_{\text{Cu}} = 1{,}61$ – наблюдается эпизодическая загрязненность соединениями меди низкого уровня.

Данный метод может быть применен для комплексной оценки современного состояния загрязненности воды водных объектов. Используя его, можно охарактеризовать:

– створ, пункт, участок или акваторию водного объекта, объект в целом, речной бассейн и т.д.;

– конкретный период времени: сутки, месяц, квартал, гидрологический сезон, год, многолетний период и т.д.

Метод комплексной оценки может быть использован для решения различных задач сравнения. Он позволяет осуществлять по комплексам загрязняющих веществ:

– оценку изменения степени загрязненности либо качества воды водного объекта, его бассейна на отдельных участках, в различных створах по течению реки за конкретный сезон, год, многолетний период;

– сравнение степени загрязненности отдельных рек, речных бассейнов и регионов между собой за конкретный временной интервал;

– ранжирование водных объектов по степени загрязненности воды и качеству вод, а также установление наиболее загрязненных из них;

– сравнение степени загрязненности и качества воды водных объектов по определенному набору показателей, установленному в каждом конкретном случае (например, по группе веществ, характеризующих общесанитарное состояние воды и т.д.);

– сравнение степени загрязненности воды водных объектов различными веществами, выделение приоритетных загрязняющих веществ. При неодинаковой изученности водных объектов сравнение степени их загрязненности между собой за определенный период времени можно проводить, используя удельный комбинаторный индекс загрязненности воды.

Данный метод дает возможность по предложенным комплексным показателям изучить тенденции, динамику степени загрязненности либо качества воды водного объекта в створе, пункте, участке или водном объекте в целом. Комплексные показатели могут быть использованы для решения различных задач анализа, оценки, классификации, картографирования, прогнозирования загрязненности поверхностных вод при решении различных задач в области охраны поверхностных вод. Использование комплексных оценок для любых целей определяется надежностью их получения. Точность рассчитываемых комплексных оценок в значительной степени зависит от обеспеченности исходной информацией. При наличии 8 и более определений каждого учитываемого химического вещества комплексные оценки достаточно адекватно отражают ситуацию на водном объекте. При более низкой разрешающей способности сети наблюдений (число определений менее 8) рассчитанные показатели характеризуют качество воды с меньшей достоверностью и должны использоваться как ориентировочные.

18.8.7. ПРИМЕР РАСЧЕТА КОМПЛЕКСНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СТЕПЕНИ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ ВОДЫ

Исходная информация. По результатам химического анализа воды реки *P* в створе *A* за 1997 г. необходимо дать комплексную оценку степени ее загрязненности. Для этого составляют выборочную таблицу исходных данных, в которую заносят результаты анализа за весь рассматриваемый период (табл. 18.9). Выборку делают только по тем ингредиентам, которые должны учитываться в комплексной оценке. В данном случае $N_{fj} = 16$.

Расчет коэффициента комплексности загрязненности. Коэффициент комплексности загрязненности воды *K* рассчитывается по результатам химического анализа каждой пробы воды. Полученный при этом вариационный ряд значений *K* характеризует исследуемый период наблюдений за состоянием загрязненности воды водного объекта в конкретном пункте наблюдений.

Таблица 18.9

Гидрохимическая информация о загрязненности воды реки *Р* в створе *А* за 1997 год

Дата	Концентрация ингредиентов и показателей химического состава и свойств воды, мг/дм^3																Общее количество нормируемых ингредиентов, по которым имеются данные	Количество ингредиентов, содержание которых выше ПДК	Коэффициент комплексности загрязненности воды, %
	БПК$_5$	**O$_2$**	**Cl$^-$**	SO_4^{2-}	$F_{общ}$	$N_{NO_3^-}$	$N_{NO_2^-}$	$N_{NH_4^+}$	**Фенолы**	**Нефте-продукты**	**СПАВ**	**Медь**	**Цинк**	**Хром**	**Никель**	**Свинец**			
14.01	3,22	8,05	74,0	74,9	0,16	0,32	0,300	10,0	0,010	0,90	0,25	0,040	0,034	0,000	0,012	0,001	16	10	62,5
13.02	2,64	9,43	80,3	91,3	0,18	0,36	0,310	8,00	0,009	0,80	0,26	0,044	0,024	0,000	0,017	0,001	16	10	62,5
11.03I	3,47	8,56	87,5	96,3	0,24	0,40	0,370	8,50	0,009	0,95	0,29	0,025	0,025	0,000	0,015	0,001	16	10	62,5
15.04	3,26	8,91	30,1	52,3	0,45	0,30	0,320	8,00	0,009	0,88	0,12	0,017	0,017	0,000	0,016	0,001	16	10	62,5
12.05	3,57	7,71	78,3	–	0,10	0,16	0,380	9,00	0,009	0,85	0,14	0,014	0,015	0,000	0,009	0,001	15	8	53,3
09.06	5,24	8,44	53,7	96,9	0,27	0,24	0,160	8,00	0,008	0,80	0,14	0,018	0,009	0,000	0,012	0,001	16	9	56,2
13.07	4,66	7,26	55,2	96,3	0,34	0,71	0,690	8,50	0,008	0,85	0,18	0,012	0,019	0,001	0,016	0,001	16	10	62,5
12.08	–	7,71	56,1	98,8	0,13	0,09	0,019	8,50	0,008	0,90	0,17	0,038	0,002	0,000	0,016	0,001	15	7	46,7
10.09	7,69	10,3	65,1	95,1	0,10	0,42	0,060	9,20	0,008	0,85	0,12	0,023	0,030	0,000	0,011	0,001	16	9	56,2
14.10	1,90	8,96	77,5	129	0,20	–	0,660	9,20	0,008	0,85	0,21	0,029	0,017	0,000	0,023	–	14	9	64,3
18.11	2,09	7,40	66,0	–	0,30	–	0,160	9,20	0,007	0,90	0,21	0,008	–	0,000	0,015	0,001	13	9	69,2
16.12	1,10	11,6	67,8	–	0,28	0,13	0,180	9,00	0,007	0,97	0,21	0,009	0,012	0,001	0,015	0,001	15	9	60,0

С целью достижения сопоставимости результатов расчета коэффициента K при характеристике рассматриваемого временного интервала для вычислений используются результаты анализа с одинаковым либо близким числом ингредиентов, определяемых в процессе химического анализа проб воды. Опытным путем установлено, что в результатах анализа различие по количеству учитываемых при расчете K ингредиентов не должно превышать 30%. В конечном итоге получают вариационный ряд значений коэффициента комплексности K, который дает наглядное представление о том, как варьирует комплексность загрязненности воды в течение изучаемого периода. Для полной характеристики найденной совокупности значений K целесообразно применять логически и теоретически обоснованные статистические характеристики, рассчитанные по общепринятым формулам: средние значения, ошибки средней $m_{K_{cp}}$, а также показатели вариации – экстремальные величины $K_{\min}$ и $K_{\max}$, размах вариации R_K, среднее квадратическое отклонение σ_K, дисперсию σ_K^2.

Для каждого результата анализа (для каждой пробы воды) определяют число ингредиентов из суммы всех учитываемых, по которым есть данные. В 1997 г. в пробах воды за 14 января было определено содержание 16 веществ, за 12 августа – 15 веществ, за 18 ноября – 13 веществ и т.д. Разность между количеством учитываемых и определенных ингредиентов во всех пробах воды не превышает 30%, что позволяет перейти непосредственно к расчету коэффициента комплексности K.

В результате химического анализа, сделанного 14 января, определено 16 ингредиентов (N_{fj} = 16). По 10 из них наблюдались превышения ПДК (N'_{fj} = = 10). Следовательно

$$K_{fj} = \frac{10}{16} \cdot 100\% = 62,5\%.$$

В результате химического анализа, проведенного 13 февраля, 11 марта, 15 апреля, N_{fj} = 16, N'_{fj} = 10 и аналогично K_{fj} = 62,5%.

В результате химического анализа проб воды от 12 мая определены 15 ингредиентов (N_{fj} = 15). По 8 из них наблюдались превышения ПДК (N'_{fj} = 8). Тогда

$$K_{fj} = \frac{8}{15} \cdot 100\% = 53,3\% .$$

Аналогично проводят расчет по результатам анализа за все остальные даты отбора проб воды. В итоге для 1997 г. получают вариационный ряд значений K: 62,5; 62,5; 62,5; 62,5; 53,3; 56,2; 62,5; 46,7; 56,2; 64,3; 69,2; 60%.

Ранжированный ряд при этом выглядит следующим образом: 46,7; 53,3; 56,2; 56,2; 60,0; 62,5; 62,5; 62,5; 62,5; 62,5; 64,3; 69,2%.

Для полученного ряда определяют следующие статистические показатели: $K_{\min}$ = 46,7%; $K_{\max}$ = 69,2%; R_K = 22,5%; $K_{ср}$ = 59,9%; σ_K^2 = 35,0; σ_K = 5,91; $m_{K_{ср}}$ = 1,71.

Полученные расчетные характеристики позволяют сделать следующие выводы.

Значения коэффициента комплексности загрязненности воды реки *P* в створе *A* в 1997 г. изменялись с вероятностью 99,7% в пределах 59,9±3·1,7%, а доверительные границы составили от 54,8 до 65,0%. Среднее значение коэффициента комплексности превышает свою ошибку более чем в три раза, что дает основание считать ее достоверной.

Вода реки *P* в створе *A* обладала в течение всего анализируемого периода высокой комплексностью загрязненности. Большое число определенных ингредиентов являлись загрязняющими. Как правило, это были легкоокисляемые органические вещества (по $БПК_5$), аммонийный и нитритный азот, нефтепродукты, фенолы, СПАВ, соединения железа, меди, цинка, никеля. Химический состав воды подвержен существенным изменениям в течение года – размах варьирования коэффициента комплексности составил 22,5%. Анализ загрязненности воды с помощью *K* показал, что для оценки степени загрязненности воды реки в этом створе целесообразно использовать комплексный метод, учитывающий одновременно всю совокупность загрязняющих воду веществ.

Расчет комбинаторного индекса загрязненности воды. Наблюдения за химическим составом воды реки *P* в створе *A* проводили в 1997 г. по 16 ингредиентам (табл. 18.9). Предварительным обследованием была выявлена высокая комплексность загрязненности воды ($K_{ср}$ = 59,9%). Необходимо дать комплексную оценку качества воды реки *P* в створе *A* за 1997 г. Расчет комбинаторного индекса загрязненности воды проводят в соответствии с техникой расчета, изложенной в настоящих методических указаниях. Результаты расчета заносят в табл. 18.10. По каждому ингредиенту проводят следующие вычисления.

В графу 2 табл. 18.10 заносят данные по числу определений. По растворенному в воде кислороду их 12, по $БПК_5$ воды – 11 и т.д.

В графу 3 табл. 18.10 помещают данные по числу определений, превышающих ПДК. По растворенному в воде кислороду превышений ПДК нет, по $БПК_5$ воды – 9 и т.д.

На основании данных второй и третьей граф определяется повторяемость случаев превышения ПДК:

$$\alpha_{O_2} = 0\%;\ \alpha_{БПК_5} = \frac{9}{11}\cdot 100\% = 81{,}8 \text{ и т.д.}$$

Результаты помещают в графу 4. По значениям повторяемости на основании табл. 18.6 определяют частный оценочный балл S_α:

$$S_{\alpha_{БПК_5}} = 4{,}0;\ S_{\alpha_{фен}} = 4{,}0 \text{ и т.д.}$$

Таблица 18.10

Расчет комбинаторного индекса загрязненности воды реки *P* в створе *A* за 1997 год

Ингредиенты и показатели загрязненности	n_i	n_i'	$\alpha_i = \frac{n_i'}{n_i} \cdot 100\%$	S_{α_i}	$\sum \beta_i = \sum_{i=1}^{n_i'} \frac{C_i}{ПДК_i}$	$\overline{\beta}_i$	S_{β_i}	S_i
O_2	12	–	–	–	–	–	–	–
$БПК_5$	11	9	81,8	4,0	1,6+1,3+1,7+1,6+1,8+2,6+ +2,3+3,8+1,0=17,7	1,97	1,97	7,88
Cl^-	12	–	–	–	–	–	–	–
SO_4^{2-}	9	–	–	–	–	–	–	–
$Fe_{общ}$	12	10	83,3	4,0	1,6+1,8+2,4+4,5+2,7+3,4+ +1,3+2,0+3,0+2,8=25,5	2,55	2,07	8,28
$N_{NO_3^-}$	10	–	–	–	–	–	–	–
$N_{NO_2^-}$	12	11	91,7	4,0	15,0+15,5+18,5+16,0+19,0+ 8,0+34,5+3,0+33,0+8,0+9,0=180	16,3	3,16	12,6
Фенолы	12	12	100	4,0	10+9+9+9+9+8+8+ +8+8+8+7+7=100	8,33	2,79	11,2
Нефтепродукты	12	12	100	4,0	18+16+19+17,6+17+16+17+ +18+17+17+18+19,4=210	17,5	3,19	12,8
$N_{NH_4^+}$	12	12	100	4,0	25,6+20,5+21,8+20,5+23,1+ +20,5+21,8+21,8+23,6+ +23,6+23,6=270	22,5	3,31	13,2
СПАВ	12	12	100	4,0	2,5+2,6+2,9+1,2+1,4+1,4+1,8+ +1,7+1,2+2,1+2,1+2,1=23,0	1,92	1,92	7,68
Медь	12	12	100	4,0	40+44+25+17+14+18+12+ +38+23+29+8+9=277	23,1	3,33	13,3
Цинк	11	9	81,8	4,0	3,4+2,4+2,5+1,7+1,5+1,9+ +3,0+1,7+1,2=19,3	2,14	2,02	8,08
Хром	12	–	–	–	–	–	–	–
Никель	12	11	91,7	4,0	1,2+1,7+1,5+1,6+1,2+1,6+ +1,6+1,1+2,3+1,5+1,5=16,8	1,53	1,53	6,12
Свинец	11	–	–	–	–	–	–	–

Рассчитывают кратность превышения ПДК в тех результатах анализа, где оно имеет место (графа 6). Затем определяют среднее значение кратности превышения ПДК только по тем пробам, где есть нарушение нормативов (графа 7). Например:

$$\overline{\beta}_{БПК_5} = (1{,}6 + 1{,}3 + 1{,}7 + 1{,}6 + 1{,}8 + 2{,}6 + 2{,}3 + 3{,}8 + 1{,}0) / 9 =$$

$$= 1{,}97 \text{ мг/дм}^3 \text{ по кислороду } O_2;$$

$$\overline{\beta}_{NO_2^-} = (15{,}0 + 15{,}5 + 18{,}5 + 16{,}0 + 19{,}0 + 8{,}0 + 34{,}5 + 3{,}0 + 33{,}0 + 8{,}0 + 9{,}0) / 11 =$$

$$= 16{,}3 \text{ мг/дм}^3 \text{ по азоту N.}$$

По значениям средней кратности превышения ПДК на основании табл. 18.6 определяют частный оценочный балл, который помещают в графу 8: $S_{\beta_{БПК_5}} = 1{,}97$; $S_{\beta_{NO_2^-}} = 3{,}16$ и т.д. Определение S_{β_i}, как и определение

S_{α_i}, проводят с учетом линейной интерполяции. Например: $\overline{\beta}_{NO_2^-}$ = 16,3. Согласно табл. 18.6, соответствующий этому значению балл находится между тремя и четырьмя. Доля частного оценочного балла, приходящаяся на единицу $\overline{\beta}_i$, в этих пределах составляет 0,025. Разность полученного значения средней кратности превышения ПДК (16,3) со значением левой границы табличного интервала [10; 50) составляет 16,3 – 10 = 6,3. Чтобы получить значение балла по $\overline{\beta}_{NO_2^-}$, необходимо к 3 прибавить число, полученное в результате действия 6,3·0,025 = 0,16, тогда $S_{\beta_{NO_2^-}}$ = 3 + 0,16 = 3,16.

Далее определяют обобщенные оценочные баллы по каждому ингредиенту (графа 9). Например:

$$S_{БПК_5} = S_{\alpha_{БПК_5}} S_{\beta_{БПК_5}} = 4 \cdot 1{,}99 = 7{,}88;$$

$$S_{NO_2^-} = S_{\alpha_{NO_2^-}} S_{\beta_{NO_2^-}} = 4 \cdot 3{,}16 = 12{,}6;$$

$$S_{фен} = S_{\alpha_{фен}} S_{\beta_{фен}} = 4 \cdot 2{,}79 = 11{,}2 \text{ и т.д.}$$

Значения обобщенного оценочного балла помещают в графу 9 табл. 18.10.

Значения комбинаторного индекса загрязненности воды S_A в створе A определяют как сумму обобщенных оценочных баллов по каждому ингредиенту:

$$S_A = 7{,}88 + 8{,}28 + 12{,}6 + 11{,}2 + 12{,}8 + 13{,}2 + 7{,}68 + 13{,}3 + 8{,}08 + 6{,}12 = 101{,}1.$$

Вычисляют удельный комбинаторный индекс загрязненности воды S'_A:

$$S'_A = \frac{101{,}2}{16} = 6{,}32 .$$

По значениям обобщенных оценочных баллов и условию $S_{ij} \geq 9$ находят число КПЗ: F = 5 (нитритный азот, фенолы, нефтепродукты, аммонийный азот, соединения меди).

Вычисляют коэффициент запаса k:

$$k = 1 - 0{,}1 \cdot 5 = 0{,}5.$$

Определяют класс загрязненности воды.

По табл. 18.7 подбирают градации класса качества воды, в пределах которых находится значение комбинаторного индекса загрязненности воды S_j. Пределы (L) определяют по формуле

$$L = kNx,$$

где k – коэффициент запаса; N – число ингредиентов, взятых для расчета S_j; x – натуральное число, возрастающее от 1 до 11 в зависимости от класса и разряда.

В данном примере kN = 0,5·16 = 8; предельные значения x = (10; 11). Тогда L = (80,0; 88,0). Значение комбинаторного индекса загрязненности,

равное 101,1, превосходит наиболее высокие пределы градаций, поэтому воду реки *P* в створе *A* в 1997 г. по комплексу изучаемых ингредиентов характеризуют как «экстремально грязную» и относят к 5-му классу с наихудшим качеством воды.

Более простой способ определения класса качества воды – по значению УКИЗВ (6,33) и числу КПЗ (5), согласно табл. 18.7–18.8. В графе, соответствующей значению КПЗ 5, находим градацию значений УКИЗВ, в которую входит его значение 6,33, и соответствующие им класс (5-й) и качественную характеристику – «экстремально грязная».

Пример краткой интерпретации полученных комплексных показателей. Превышение ПДК в воде реки *P* в створе *A* наблюдалось по 10 ингредиентам химического состава воды из 16 определяемых показателей. Значение коэффициента комплексности загрязненности воды по отдельным результатам анализа колебалось от 46,7 до 69,2%, в среднем составляя 59,9%, что свидетельствовало о высокой комплексности загрязнения воды реки *P* в створе *A* в течение всего года.

Для всех загрязняющих ингредиентов (табл. 18.9) в течение года характерна устойчивая загрязненность, что подтверждается наибольшими значениями частных оценочных баллов по повторяемости ($S_\alpha = 4$). Согласно классификации воды по повторяемости случаев загрязненности, загрязненность воды по всем рассматриваемым ингредиентам определяется как «характерная». Уровень загрязненности воды этими ингредиентами различен. По биохимическому потреблению кислорода, СПАВ, соединениям никеля наблюдался низкий уровень загрязненности воды. Значения частных оценочных баллов для этих ингредиентов не превышали 2,00; 1,97; 1,92; 1,53 соответственно. По фенолам, соединениям железа, цинка имел место средний уровень загрязненности. Частные оценочные баллы для них составляли соответственно 2,79; 2,07 и 2,02. Для нитритного и аммонийного азота, соединений меди и нефтепродуктов характерен высокий уровень загрязненности. Частные оценочные баллы по этим ингредиентам составляли соответственно 3,16; 3,31; 3,33 и 3,19.

Наибольшую долю в общую оценку степени загрязненности воды вносят соединения меди, аммонийный и нитритный азот, нефтепродукты и фенолы. Общие оценочные баллы этих ингредиентов составляют 13,3; 13,2; 12,6; 12,8 и 11,2 соответственно, что относит их к критическим показателям загрязненности воды этого водного объекта, на которые нужно обратить особое внимание при планировании и осуществлении водоохранных мероприятий.

Таким образом, степень загрязненности воды реки *P* в створе *A* в течение 1997 г. характеризовалась как экстремально высокая, что обусловлено нарушением существующих нормативов по девяти ингредиентам. Из числа последних особо выделяются своим высоким загрязняющим эффектом пять показателей химического состава воды: соединения меди, аммонийный и нитритный азот, нефтепродукты и фенолы. По каждому из них в 1997 г. наблюдалась характерная загрязненность высокого уровня.

18.9. МЕТОДЫ РАСЧЕТА НОРМАТИВОВ ДОПУСТИМЫХ СБРОСОВ (НДС) ВЕЩЕСТВ И МИКРООРГАНИЗМОВ[47]

18.9.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Сброс сточных или дренажных вод является одним из видов использования водных объектов согласно Водному кодексу Российской Федерации, а поступление веществ со сточными водами является самым распространенным видом воздействия на водные объекты, подлежащего нормированию[48].

Нормативы допустимых сбросов (НДС) веществ и микроорганизмов – это нормативы, которые установлены для субъектов хозяйственной и иной деятельности в соответствии с показателями массы химических веществ, в том числе радиоактивных, иных веществ и микроорганизмов, допустимых для поступления в окружающую среду от стационарных, передвижных и иных источников в установленном режиме и с учетом технологических нормативов, и при соблюдении которых обеспечиваются нормативы качества окружающей среды[49].

Величины НДС определяются исходя из нормативов качества воды водного объекта. Если нормативы качества воды в водных объектах *не могут быть достигнуты из-за воздействия природных факторов, не поддающихся регулированию*, то величины НДС определяются исходя из условий соблюдения в контрольном пункте сформировавшегося *природного фонового качества воды*.

Нормирование качества воды осуществляется в соответствии с физическими, химическими, биологическими (в том числе микробиологическими и паразитологическими) и иными показателями состава и свойств воды водных объектов, определяющими ее пригодность для конкретных целей водопользования и/или устойчивого функционирования экологической системы водного объекта.

Расчетная величина норматива допустимого сброса тесно связана с числовым значением норматива качества вод водных объектов.

Нормативы качества воды разрабатываются для условий питьевого, хозяйственно-бытового и рыбохозяйственного водопользования, определяемых в соответствии с действующим законодательством.

---

[47] Раздел написан на основе «Методики разработки нормативов допустимых сбросов веществ и микроорганизмов в водные объекты для водопользователей» в части, касающейся только расчета величин НДС для отдельных выпусков сточных вод в водотоки.

[48] 19.10. 20114 г. вступил в действие Административный регламент Росводресурсов по предоставлению госуслуги по утверждению НДС допустимых сбросов веществ (за исключением радиоактивных) и микроорганизмов в водные объекты для водопользователей (приказ Минприроды России от 20.08.2014 г. № 246).

[49] Методика разработки нормативов допустимых сбросов веществ и микроорганизмов в водные объекты для водопользователей не предусматривает разработку нормативов допустимых сбросов для радиоактивных веществ.

Нормативы качества воды водного объекта включают в себя:

– предельно допустимые концентрации для химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования (гигиенические нормативы ПДК);

– предельно допустимые концентрации для химических веществ в воде водных объектов рыбохозяйственного значения (рыбохозяйственные нормативы ПДК);

– ОДУ химических веществ в воде водных объектов питьевого и хозяйственно-бытового (хозяйственно-питьевого) и рекреационного (культурно-бытового) водопользования;

– ОБУВ вредных веществ в воде водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение.

– региональный природный фон, который отражает значения показателей качества воды, сформировавшихся под влиянием природных факторов, характерных для конкретного региона, не являющихся вредными для сложившихся водных экосистем (для естественных природных водных объектов идентичен экологическим ПДК);

– целевой показатель качества воды (ЦПКВ) для сильно модифицированных водных объектов;

– технологический норматив для искусственных водных объектов.

Для естественных водных объектов норматив качества воды водного объекта в соответствии с действующим законодательством должен равняться экологическим нормативам, разрабатываемым для конкретных водных объектов с использованием гидробиологических показателей. При современной изученности вопроса и отсутствии утвержденных нормативно-методических документов по установлению экологических нормативов последние допустимо принимать равными региональному фону, рассчитанному для участков водного объекта или его бассейна, где наблюдается благополучное состояние экосистемы, определенное по гидробиологическим показателям.

Для искусственных водных объектов в зависимости от вида их использования, степени и характера их связи с природной гидрографической сетью при установлении нормативов качества воды, кроме указанных выше вариантов, могут использоваться технологические нормативы, установленные для конкретных видов производства.

Региональные нормативы качества воды устанавливаются только по веществам, имеющим природное происхождение или получившим глобальное распространение и входящим в состав постоянных абиотических факторов для существующих гидроэкосистем.

Для особо охраняемых водных объектов могут устанавливаться особые требования к качеству вод и индивидуальные нормативы ПДК с учетом природных особенностей водного объекта. ПДК определяются на основании природного регионального фона для всех показателей. Границы особо охраняемых водных объектов определяются в соответствии с законом «Об особо охраняемых природных территориях» № 33–ФЗ от 14.03.95.

В случаях использования поверхностного водного объекта в различных целях к составу и свойствам воды предъявляются наиболее жесткие нормативы качества вод из числа установленных.

Категория водного объекта определяется по данным Государственного водного реестра либо в соответствии с положениями «Методических указаний по разработке схем комплексного использования и охраны водных объектов (СКИОВО)».

При невозможности соблюдения НДС могут устанавливаться лимиты на сбросы загрязняющих веществ на основе решений, действующих только в период проведения мероприятий по охране окружающей среды, внедрения наилучших существующих технологий и (или) реализации других природоохранных проектов с учетом поэтапного достижения установленных нормативов допустимых сбросов веществ и микроорганизмов.

НДС и лимиты на сбросы веществ и микроорганизмов со сточными водами устанавливаются в виде требований к показателям физических, химических, физико-химических, биологических и органолептических свойств воды, содержание которых может быть определено с применением существующих методов и методик выполнения измерений.

НДС и лимиты на сбросы для конкретного выпуска сточных вод устанавливаются только для веществ, которые образовались в процессе производственной и/или иной деятельности, исходя из технологического регламента производственной деятельности водопользователя, и сброс которых в водные объекты оказывает или может оказать на них негативное воздействие.

Расчет НДС в водный объект, а также лимитов на сбросы проводится, как правило, на бассейновом уровне. Расчет НДС в водный объект на локальном уровне рекомендуется выполнять в следующих случаях:

– наличие единого выпуска сточных вод в водоток или на водохозяйственный участок водотока;

– при сбросе веществ со сточными водами в водоемы с обоснованием отсутствия взаимного влияния выпусков.

Для постоянных источников загрязнения НДС устанавливается:

– для действующих объектов сроком на 5 лет;

– для проектируемых объектов на полную их мощность сроком до 5 лет, начиная с момента ввода их в эксплуатацию;

– для строящихся и реконструируемых объектов – на полный объем введенных мощностей – до ввода очередной мощности.

Для периодических источников загрязнения НДС устанавливаются на срок не более 3 лет.

При сбросе сточных вод или других видах хозяйственной деятельности, влияющих на состояние водных объектов, используемых для питьевых и хозяйственно-бытовых целей, *нормативы качества вод или их природный состав и свойства выдерживаются* на водотоках начиная со створа, располо-

женного *на 1 км выше* ближайшего по течению пункта водопользования (водозабор для питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения, места купания, организованного отдыха, территория населенного пункта и т.п. вплоть до самого места водопользования), а на водоемах – на акватории *в радиусе 1 км* от пункта водопользования.

В водохранилищах и в нижнем бьефе плотины гидроэлектростанции, работающей в резко переменном режиме, учитывается возможность воздействия на пункты водопользования обратного течения при резкой смене режима работы электростанции или прекращении ее работы.

При сбросе сточных вод или других видах хозяйственной деятельности, влияющих на состояние *водных объектов рыбохозяйственного значения*, нормативы качества поверхностных вод или их природные состав и свойства (в случае природного превышения этих нормативов) *соблюдаются на протяжении всего участка водопользования*, начиная с контрольного створа (контрольный створ – поперечное сечение водного потока, в котором контролируется качество воды), *но не далее чем 500 м от места сброса сточных вод* или расположения других источников загрязнения поверхностных вод (мест добычи полезных ископаемых, производства работ на водном объекте и т.п.).

В случае одновременного использования водного объекта или его участка для различных нужд для состава и свойств его вод принимаются наиболее жесткие нормы качества воды из числа установленных.

Для веществ, относящихся к 1-му и 2-му классам опасности при всех видах водопользования, НДС определяются так, чтобы для веществ с одинаковым лимитирующим признаком вредности (ЛПВ), содержащихся в воде водного объекта, сумма отношений концентраций каждого вещества к соответствующим ПДК не превышала 1.

$$\left(\frac{C_1}{\text{ПДК}_1}+\frac{C_2}{\text{ПДК}_2}+\ldots+\frac{C_n}{\text{ПДК}_n}\right)\le 1.$$

Для сбросов сточных вод в черте населенного пункта НДС определяются исходя из отнесения нормативных требований к составу и свойствам воды водных объектов к самим сточным водам: при сбросе сточных вод в водный объект через рассеивающие выпуски, гарантирующие необходимое смешение и разбавление сбрасываемых вод, нормативные требования к составу и свойствам воды должны обеспечиваться в створе начального разбавления рассеивающего выпуска.

Если фоновая загрязненность водного объекта по каким–либо показателям не позволяет обеспечить нормативного качества воды в контрольном пункте, то НДС по этим показателям разрабатываются исходя из отнесения нормативных требований к составу и свойствам воды водных объектов к самим сточным водам.

Для тех веществ, для которых нормируется приращение к природному естественному фону, НДС определяются с учетом этих допустимых приращений к природному фоновому качеству воды.

В числе естественных факторов, формирующих качество воды, рассматриваются факторы, не входящие в хозяйственное звено круговорота воды, включающее возвратные воды всех видов (сточные, сбросные и дренажные).

При сбросе теплообменных вод ТЭС, АЭС и других подобных объектов НДС разрабатываются на уровне концентраций нормированных веществ в воде водного объекта в месте водозабора (при условии водопользования одним водным объектом) или соблюдения в сточных водах нормативов качества воды для вида водопользования, установленного на рассматриваемом участке водного объекта – приемника сточных вод.

Исходная информация для разработки проекта НДС может быть получена в территориальных органах Росгидромета или принята по данным организаций, имеющих лицензию на выполнение работ, связанных с получением требуемых данных.

Величины НДС разрабатываются и утверждаются для действующих и проектируемых организаций-водопользователей. Разработка величин НДС осуществляется как организацией-водопользователем, так и по его поручению проектной или научно-исследовательской организацией. Если фактический сброс действующей организации-водопользователя меньше расчетного НДС, то в качестве НДС принимается фактический сброс, за исключением показателей, значения которых возрастают после биологической очистки (например, нитриты и нитраты).

Величины НДС проектируемых и строящихся (реконструируемых) организаций-водопользователей определяются в составе проектов строительства (реконструкции) этих организаций. Если при пересмотре или уточнении ранее установленного НДС окажется, что проектное значение сброса строящейся (реконструируемой) организации-водопользователя меньше расчетного НДС, то в качестве НДС принимается проектное значение сброса.

При разработке НДС перерасчет массы вещества, сбрасываемого в час (г/час), на массу вещества, сбрасываемого в месяц (т/мес), производится умножением допустимых концентраций вещества на объем сточных вод за соответствующий период.

При сбросе сточных вод во внутренние морские воды и территориальное море Российской Федерации расчет НДС производится с учетом степени смешения и разбавления сточных вод морской водой при условии соблюдения требований и нормативов установленного вида водопользования.

Критерии эффективности обеззараживания сточных вод, отводимых в водные объекты, и допустимые изменения состава воды в водоемах и водотоках после выпуска в них очищенных сточных вод приведены в табл. 18.11.

Таблица 18.11

Критерии эффективности обеззараживания сточных вод, отводимых в водные объекты

№	Показатели	Допустимые остаточные уровни
		сточные воды, отводимые в водные объекты
1	Общие колиформные бактерии (КОЕ/100 мл), не более	100
2	Колифаги (БОЕ/100 мл по фагу М2), не более	100
3	Термотолерантные колиформные бактерии (КОЕ/100 мл), не более	100
4	Фекальные стрептококки (КОЕ/100 мл), не более	10
5	Патогенные микроорганизмы	Отс.
8	Специфические вещества, образующиеся в результате обеззараживания	Регламентируются в соответствии с требованиями санитарных норм и правил

Таблица 18.12

Допустимые изменения состава воды в водоемах и водотоках после выпуска в них очищенных сточных вод

Показатели	Цели водопользования			
	хозяйственно-питьевые нужды населения	Коммунально-бытовые нужды населения	Нужды рыбного хозяйства	
			высшая и первая категории	вторая категория
Возбудители заболеваний	Вода не должна содержать возбудителей заболеваний, в том числе жизнеспособные яйца гельминтов (аскарид, власоглав, токсокар, фасциол), онкосферы тенниид и жизнеспособные цисты патогенных кишечных простейших			
Лактоположительные кишечные палочки (ЛПК) не более	10000 в 1 куб. дм	5000 в 1 куб. дм	–	–
Колифаги (в бляшкообразующих единицах)	100 в 1 куб. дм	100 в 1 куб. дм	–	–
Токсичность воды			Сточная вода на выпуск в водный объект не должна оказывать острого токсического действия на тест-объекты. Вода водного объекта в контрольном створе не должна оказывать хронического токсического действия на тест-объекты	

Примечание. Прочерк означает, что показатель не нормирован.

Запрещается сброс сточных и (или) дренажных вод в водные объекты:

– содержащие природные лечебные ресурсы;
– отнесенные к особо охраняемым водным объектам.

Запрещается сброс сточных и (или) дренажных вод в водные объекты, расположенные в границах:

– зон, округов санитарной охраны источников питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения;

– первой, второй зон округов санитарной (горно-санитарной) охраны лечебно-оздоровительных местностей и курортов;

– рыбоохранных зон, рыбохозяйственных заповедных зон.

При эксплуатации водохозяйственной системы запрещается:

1) осуществлять сброс в водные объекты сточных вод, не подвергшихся санитарной очистке, обезвреживанию (исходя из недопустимости превышения нормативов допустимого воздействия на водные объекты и нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водных объектах), а также сточных вод, не соответствующих требованиям технических регламентов;

2) производить забор (изъятие) водных ресурсов из водного объекта в объеме, оказывающем негативное воздействие на водный объект;

3) осуществлять сброс в водные объекты сточных вод, в которых содержатся возбудители инфекционных заболеваний, а также вредные вещества, для которых не установлены нормативы предельно допустимых концентраций.

Перечень нормируемых веществ формируется на основе исходной информации об использовании веществ на конкретном предприятии и анализе данных о качестве исходной и сточной вод. Фактическое содержание загрязняющих веществ в сточных водах определяется как среднеарифметическое значение концентрации за год.

18.9.2. УСТАНОВЛЕНИЕ ЛИМИТОВ НА ВЫБРОСЫ И СБРОСЫ ВЕЩЕСТВ И МИКРООРГАНИЗМОВ

Установление лимитов на выбросы и сбросы допускается только при наличии планов природоохранных мероприятий, направленных на снижение сбросов загрязняющих веществ и согласованных с территориальными органами Федерального агентства водных ресурсов (Росводресурсы), Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзора), Федеральной службы по экологическому, технологическому и атомному надзору (Ростехнадзора), а также органами исполнительной власти субъектов Российской Федерации.

План водоохранных мероприятий включает в себя работы по модернизации производственных технологий и работы очистных сооружений, восстановлению, рациональному использованию и охране водных объектов. По мере осуществления отдельных этапов планов водоохранных мероприятий по достижению нормативов допустимых сбросов лимиты пересматриваются в сторону их уменьшения с учетом внедрения технологий по очистке воды, позволяющих получить необходимое качество сбрасываемых сточных вод.

Продолжительность осуществления плана водоохранных мероприятий по достижению НДС и его этапов устанавливается для каждого конкретного случая в зависимости от экологического состояния водного объекта и социально–экономического положения водопользователя.

Лимиты на выбросы и сбросы должны быть технологически достижимыми и экономически приемлемыми. Лимиты устанавливаются на текущий момент и ближайшую перспективу, но не более 3 лет с учетом нормативных сроков реализации плана мероприятий по снижению загрязнения.

Предельные величины показателей загрязнения и концентраций загрязняющих веществ, регламентируемых лимитами на выбросы и сбросы, не могут быть:

– больше фактически достигаемых с применением реализованной на момент установления лимитов технологии производства или очистки воды;

– меньше достигаемых с применением наилучшей существующей (или доступной) технологии производства или очистки воды, которые являются временными и подлежат пересмотру;

– меньше, чем рассчитанные при установлении НДС.

При установлении лимитов на выбросы и сбросы учитываются следующие обязательные условия:

– сточные воды должны быть очищены и обеззаражены по традиционной схеме очистки (механическая, биохимическая или другая) даже при большой ассимилирующей способности водных объектов;

– сточные воды должны быть очищены до уровней, соответствующих проектным параметрам очистки действующих очистных сооружений.

Для проектируемых объектов, предполагающих сброс сточных вод в водные объекты, лимиты на выбросы и сбросы не устанавливаются.

18.9.3. НОРМАТИВЫ КАЧЕСТВА ВОДЫ В ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТАХ

Нормативы качества воды водного объекта – это нормативы, которые устанавливаются в соответствии с физическими, химическими, биологическими и иными показателями, при соблюдении которых обеспечивается устойчивое функционирование естественных водных экологических систем и сохраняется биологическое разнообразие.

Нормативы качества воды водного объекта являются стандартом, обеспечивающим устойчивое функционирование водной экосистемы и социально–экономических структур общества, связанных с использованием водных ресурсов данного водного объекта.

Основные требования к нормативам качества водного объекта:

– гарантированное сохранение экологического благополучия водного объекта или улучшения состояния и функционирования водной и околоводной экосистем;

– обеспечение устойчивого развития общества в пределах бассейна водного объекта;

– реалистичность и эффективность их применения при регулировании природопользования;

– учет природных и социально-экономических особенностей территорий.

Нормативы качества воды водного объекта могут иметь регионально–локальную ориентацию. Их следует устанавливать с учетом происхождения нормируемого вещества, естественного регионального фона и его внутриго-

довой изменчивости, фактического состояния расчетного участка и его положения в общей гидрографической сети, а также приоритетного использования водных ресурсов.

Нормативы качества воды водного объекта должны гарантировать сохранение и/или достижение целевого использования (целевой функции) и должны быть ориентированы на целевые показатели качества воды (ЦПКВ). Целевые показатели качества воды обеспечивают поддержание и при необходимости улучшение существующего качества воды. ЦПКВ основываются на рациональном сочетании общих санитарно-гигиенических, рыбохозяйственных и иных экологических требований к качеству воды, региональных особенностей гидрохимического состава природных вод и реальной возможности осуществления природоохранных мероприятий для достижения этих показателей.

Целевые показатели качества воды подразделяются на долгосрочные (ДЦПКВ) и краткосрочные (КЦПКВ) в зависимости от продолжительности периода, на который они устанавливаются. ДЦПКВ соответствуют стратегической цели – восстановлению (сохранению) водных биологических ресурсов и в подавляющем большинстве случаев идентичны нормативу качества воды водного объекта. ДЦПКВ устанавливаются для каждого водного объекта (участка водного объекта), исходя из его типа, условий формирования химического состава, степени современной трансформации водного объекта, происшедшей в результате антропогенной деятельности. ДЦПКВ устанавливаются преимущественно по экологическим критериями и направлены на улучшение гидрохимического и экологического статуса водного объекта от существующего до естественного или наилучшего (максимально достижимого).

КЦПКВ назначаются на основе анализа действующих производственных и наилучших доступных водоохранных технологий, оценки экономической и социальной приемлемости. Временные рамки действия отдельных этапов КЦПКВ зависят от степени отличия фактического состояния водного объекта и эталонного качества воды (желаемого на перспективу) и определяются технико–экономическими и финансовыми возможностями водопользователей на расчетном участке и других заинтересованных сторон (исполнительные органы власти различного уровня, ассоциации предпринимателей, инвесторы и т.д.).

В современных условиях выделяются четыре основные целевые функции в использовании и охране водных объектов, чей приоритет располагается в следующем порядке:

- охрана здоровья населения с требованием обеспечения качественной питьевой водой, а также предотвращение распространения заболеваний, связанных с водным фактором;
- устойчивое воспроизводство экологически полноценных водных ресурсов конкретного водного объекта (эффективная охрана экосистем и их водных объектов от всех форм деградации в пределах речных бассейнов);
- обеспечение устойчивого социально-экономического развития территории;
- восстановление (сохранение) водного режима водных объектов близкого к природному.

ЦПКВ устанавливаются при разработке схем комплексного использования и охраны водных объектов (СКИОВО). В разработке СКИОВО принимают участие Министерство экономического развития и торговли РФ, Министерство здравоохранения и социального развития РФ, Министерство регионального развития РФ, Росрыболовство, Росгидромет, Ростехнадзор, иные заинтересованные федеральные органы исполнительной власти, а также органы государственной власти субъектов Российской Федерации.

Региональные нормативы качества воды в водных объектах устанавливаются в тех случаях, когда региональный природный фон отражает значения показателей качества воды, сформировавшихся под влиянием природных факторов, характерных для конкретного региона, не являющихся вредными для сложившихся водных экосистем. Обоснованием для установления региональных нормативов являются фоновые естественные концентрации веществ в воде водных объектов. Фоновые концентрации определяются на основании данных стационарных гидрологических, гидрохимических, гидробиологических и других наблюдений, проводимых организациями, имеющими лицензию на право проведения таких работ, а также на основании специальных гидрологических и гидрохимических измерений качества воды в том створе, выше которого отсутствуют источники антропогенного воздействия. Разработка региональных нормативов качества воды выполняется специализированными научными и проектными организациями в соответствии с действующими нормативно-методическими документами.

При определении перечня нормируемых веществ особое внимание уделяется синтетическим веществам – ксенобиотикам, которые:

- запрещены к производству, закупке, применению;
- не прошли регистрацию в установленном порядке или в регистрационных документах отсутствуют данные об их гигиенической и экологической опасности;
- являются суперэкотоксикантами и иными особо опасными веществами: отнесены к 1-му и 2-му классам опасности по гигиеническим и рыбохозяйственным критериям, включены, как запрещенные, в списки международных конвенций и соглашений, к которым присоединилась Российская Федерация.

18.9.4. МЕТОДИЧЕСКАЯ ОСНОВА РАСЧЕТА НОРМАТИВОВ ДОПУСТИМЫХ СБРОСОВ

НДС i-го химического или другого вещества есть масса этого вещества в сточных (сбросных) водах, максимально допустимая к отведению с установленным режимом в данном створе водного объекта в единицу времени, обеспечивающая нормативный показатель (ПДК) этого вещества в воде водного объекта. Из этого определения следует, что НДС есть зависимая величина от ассимилирующей способности водного объекта и изменений концентраций химических и других веществ в результате гидродинамических и биохимических процессов в водном объекте. Ассимилирующая способность водного объекта – это возможность водного объекта принимать определенную массу i-го вещества в единицу времени без нарушения нормативного показателя этого

же вещества в воде водного объекта в контрольном створе. Ассимилирующая способность водного объекта должна учитываться для водных объектов, где происходит замедленный водообмен и время достижения контрольного створа составляет более полусуток, когда распад неконсервативных веществ имеет существенное значение и его учет необходим при прогнозе качества воды. К таким водным объектам относятся водоемы (исключая зоны ограничения согласно СанПиН 2.1.5.980–00) и прибрежные зоны морей. Для водоемов и морей ассимилирующая способность определяется при помощи коэффициента неконсервативности, НДС разрабатываются в соответствии с нормативами допустимых воздействий на водные объекты (НДВ). При расчете НДС для водохозяйственного участка величины НДС устанавливаются с учетом предельно допустимых концентраций (ПДК) веществ в местах водопользования, ассимилирующей способности водного объекта и оптимального распределения массы сбрасываемых веществ между водопользователями, сбрасывающими сточные воды.

В связи со сложностью реализации расчета НДС для совокупности организаций-водопользователей возможно применение пакетов прикладных программ, обеспечивающих расчеты НДС.

При расчете НДС для водопользователей, расположенных в пределах водохозяйственного участка, необходимо соблюдение следующего условия:

$$\sum \text{НДС} + \sum \text{Lim} \geq 0,8\text{НДВ}_{\text{хим.упр}}$$

где $\sum \text{НДС}$ – сумма нормативов допустимых сбросов по выпускам сточных вод, расположенным в пределах расчетного водохозяйственного участка, т/год; $\sum \text{Lim}$ – сумма лимитов на сброс загрязняющих веществ со сточными водами по выпускам сточных вод, расположенным в пределах расчетного водохозяйственного участка, т/год; $0,8\text{НДВ}_{\text{хим.упр.}}$ – 80% норматива допустимого воздействия по привносу химического вещества для водопользователей, имеющих управляемые и потенциально управляемые источники загрязнения, т/год.

Оставшиеся 20% $\text{НДВ}_{\text{хим.упр}}$ используются с учетом перспективы развития территории и появления новых выпусков сточных вод.

При достижении:

$$\sum \text{НДС} + \sum \text{Lim} = 0,8\text{НДВ}_{\text{хим.упр}}$$

проводится перерасчет нормативов допустимого сброса по указанному выше принципу. Перерасчет НДС в первую очередь проводится за счет уменьшения значений лимитов на сброс загрязняющих веществ со сточными водами.

В случае отсутствия утвержденных в установленном порядке НДВ величины НДС рассчитываются для отдельных водопользователей.

Если при расчете величины НДС отсутствует достоверная информация о качестве воды выше сброса, то проводится расчет фоновых концентраций химических веществ в установленном порядке. До установления фоновых концентраций следует соблюдать нормативные требования к составу и свойствам сточных вод, обеспечивающие выполнение требований к качеству вод водного объекта.

При расчете НДС необходимо учитывать технико-экономические характеристики производства, системы очистки, а также оборотного или повторного использования воды каждой конкретной организации. Расчет НДС имеет свои особенности для разных условий отведения сточных вод в водные объекты:

- для бассейна реки или ее участков (бассейновый принцип);
- для отдельного выпуска в водоем;
- для отдельного выпуска в водоток;
- для отдельного выпуска в прибрежную зону морей.

Наиболее сложен расчет НДС для бассейна реки или ее участков, требующий специального программного обеспечения. Мы остановимся на более простом расчете величины НДС для отдельного выпуска.

18.9.5. РАСЧЕТ ВЕЛИЧИН НДС ДЛЯ ОТДЕЛЬНЫХ ВЫПУСКОВ СТОЧНЫХ ВОД В ВОДНЫЕ ОБЪЕКТЫ

Величины НДС определяются для всех категорий водопользователей как произведение максимального часового расхода сточных вод – q' (м^3/ч) на допустимую концентрацию загрязняющего вещества $C_{\text{НДС}}$ (г/м^3). При расчете условий сброса сточных вод сначала определяется значение $C_{\text{НДС}}$, обеспечивающее нормативное качество воды в контрольных створах с учетом требований методики, а затем определяется НДС согласно формуле:

$$\text{НДС}_j = q \cdot C_{\text{НДС}_j} \ . \qquad (18.22)$$

Необходимо подчеркнуть обязательность требования увязки сброса массы вещества, соответствующей НДС, с расходом сточной воды. Например, уменьшение расхода при сохранении величины НДС будет приводить к концентрации вещества в водном объекте, превышающей ПДК.

Если фоновая концентрация загрязняющего вещества в водном объекте превышает ПДК, то величины $C_{\text{НДС}}$ определяются исходя из условий соблюдения в контрольном пункте сформировавшегося природного фонового качества воды. В противном случае для определения $C_{\text{НДС}}$ в зависимости от типа водного объекта используются расчетные формулы, приведенные в данном разделе.

Фоновая концентрация химического вещества это расчетное значение концентрации химического вещества в конкретном створе водного объекта, расположенном выше одного или нескольких контролируемых источников этого вещества, при неблагоприятных условиях, обусловленных как естественными, так и антропогенными факторами воздействия. Все загрязняющие вещества подразделяются на две группы: *консервативные,* которые подвергаются лишь разбавлению (соли тяжелых металлов и другие примеси) и *неконсервативные*, присутствующие в растворенном состоянии, в форме коллоидов и в виде взвесей.

Основная расчетная формула для определения $C_{НДС}$ консервативных веществ имеет вид:

$$C_{НДС_j} = C_{ф_j} + n(C_{ПДК_j} - C_ф), \qquad (18.23)$$

где $C_{ПДК}$ – предельно допустимая концентрация загрязняющего вещества в воде водотока, г/м^3; $C_ф$ – фоновая (доверительная) концентрация загрязняющего вещества воды водотока в створе на расстоянии 1 км выше от места выпуска; n – кратность общего разбавления сточных вод в водотоке, равная произведению кратности начального разбавления $n_н$ на кратность основного разбавления $n_о$ (основное разбавление, возникающее при перемещении воды от места выпуска к расчетному створу)

$$n = n_н \cdot n_о.$$

С учетом неконсервативности загрязняющего вещества расчетная формула:

$$C_{НДС_j} = C_{ф_j} + n(C_{ПДК_j} \cdot e^{-kt} - C_ф), \qquad (18.24)$$

где k – коэффициент неконсервативности органических веществ, показывающий скорость потребления кислорода, зависящий от характера органических веществ, 1/сут; t – время добегания от места выпуска сточных вод до расчетного створа, сутки, e – основание натурального логарифма.

Значения коэффициента неконсервативности принимаются по данным натурных наблюдений или по справочным данным и пересчитываются в зависимости от температуры и скорости течения воды реки (табл. 18.13).

Коэффициент неконсервативности приведен для температуры воды 20°С.

При температуре T°С коэффициенты неконсервативности должны пересчитываться по формуле:

$$k_T = k_{20} \cdot 1{,}04^{(T-20)}. \qquad (18.25)$$

При установлении НДС по БПК расчетная формула имеет вид:

$$C_{НДС} = n\left\{\left(C_{ПДК} - C_{см}\right)e^{k_0 t} - C_ф\right\} + C_ф, \qquad (18.26)$$

где $k_о$ – осредненное значение коэффициента неконсервативности органических веществ, обусловливающих БПК$_{полн.}$ фона и сточных вод, 1/сут; $C_{см}$ – это БПК$_{полн.}$, обусловленная метаболитами и органическими веществами, смываемыми в водоток атмосферными осадками с площади водосбора на последнем участке пути перед контрольным створом длиной 0,5 суточного пробега. Значение $C_{см}$ принимается равным: для горных рек – 0,6–0,8 г/м^3; для равнинных рек, протекающих по территории, почва которой не слишком богата органическими веществами, – 1,7–2 г/м^3; для рек болотного питания или протекающих по территории, с которой смывается повышенное количество органических веществ, – 2,3–2,5 г/м^3. Если расстояние от выпуска сточных вод до контрольного створа меньше 0,5 суточного пробега, то $C_{см}$ принимается равной нулю.

Таблица 18.13

Коэффициенты неконсервативности для наиболее распространенных веществ

Вещество	**Коэффициент неконсервативности k_{20} (при расчете по натуральному логарифму, 1/сут.)**
1	2
Органические вещества по $БПК_п$	0,1
Органические вещества по $БПК_5$	0,2
Нефтепродукты	0,1
Фенолы	0,5
Органические вещества по ХПК	0,1
СПАВ	0,05
Ионы аммония	0,5
Азот нитратный	1,0
Медь	0,3
Цинк	0,3
Лигносульфонаты	0,04
Азот аммонийный	0,069
Азот нитритов	10,8
Биологически мягкие вещества	
Формальдегид	1,4
Паста АС–1	0,96
Паста АС–2	0,76
Глюкоза	0,72
l–Сорбоза	0,71
Мальтоза	0,63
«Новость»	0,59
Метиловый спирт	0,57
Гептиловый спирт	0,56
Фурфурол	0,55
Этиловый спирт	0,5
Уксусный альдегид	0,49
Амиловый спирт	0,47
Алкилсульфонат на основе солей суль-фоянтарной кислоты	0,47
«Прогресс»	0,45
Бутиловый спирт	0,45
Паста ДНС-2	0,42
Оксанол Л-7	0,42
Пропиловый спирт	0,41
Фенол	0,38
Синтанол МЦ-10	0,37
Вторичный пропиловый спирт	0,37
Оксанол КШ-9	0,36
Изобутиловый спирт	0,35
Синтанол ВТ-7	0,3

Окончание таблицы 18.13

1	2
Промежуточные вещества	
Синтанол ВТ-15В	0,29
Синтанол ВН-7	0,27
Синтанол ДТ-7	0,22
м-Креозол	0,21
Синтанол ДС-10	0,22
м-Этилфенол	0,19
о-Креозол	0,18
Синтанол ВТ-15А	0,18
Паста ДНС-1	0,17
Пирокахетин	0,14
Хлорный сульфанол	0,13
Алкилсульфонат керосиновый	0,12
Сульфанол	0,12
Гваякол	0,12
Резорцин	0,11
Пирогаллол	0,1
α-Нафтол	0,1
β-Нафтол	0,9
Альфапол-9 (образец 1)	0,09
м-Ксезол	0,08
Диметилалкилбензиламмонийхлорид	0,07
α-Креозол	0,06
Альфапол-9 (образец)	0,06
Биологически жесткие вещества	
П-Ксилеол	0,05
Карвакрол	0,05
Альфапол-8	0,05
Триметилалкиламмонийхлорид ($C_{17} – C_{20}$)	0,05
Тимол	0,05
Гидрохинон	0,04
Триметилоктадециламмонийхлорид	0,04
Сульфанол ДС-РАС	0,02
Сульфанол НП-1	0,02
Дисольван-4411	0,02
Проксанол-186	0,02
ОП-7	0,007
ОП-10	0,006

При установлении НДС по БПК с учетом требований к содержанию растворенного кислорода рекомендуется использовать формулы, приведенные в справочной литературе.

Допустимое изменение температуры воды водного объекта после выпуска в них очищенных сточных вод. Для водных объектов питьевого и хозяйственно-бытового назначения летняя температура воды в результате сброса сточных вод не должна повышаться более чем на 3°С по сравнению со среднемесячной температурой воды самого жаркого месяца года за последние

10 лет. Для водных объектов рыбохозяйственного назначения температура воды не должна повышаться по сравнению с естественной температурой водного объекта более чем на 5°С с общим повышением температуры не более чем до 20°С летом и 5°С зимой для водных объектов, где обитают холодноводные рыбы (лососевые и сиговые), и не более чем до 28°С летом и 8°С зимой. В местах нерестилищ налима запрещается повышать температуру воды зимой более чем до 2°С.

18.9.6. МЕТОДИКА РАСЧЕТА НДС ОТДЕЛЬНОГО ВЫПУСКА В ВОДОЕМ

Величина НДС определяется по формуле:

$$\text{НДС}_j = q \cdot C_{\text{НДС}_j}. \qquad (18.27)$$

В свою очередь, значения $C_{\text{НДС}_j}$ (для консервативного или неконсервативного вещества) определяется по зависимостям:

$$C_{\text{НДС}_j} = C_{\text{Ф}_j} + n(C_{\text{ПДК}_j} - C_{\text{Ф}}),$$

$$C_{\text{НДС}_j} = C_{\Phi_j} + n(C_{\text{ПДК}_j} \cdot e^{-kt} - C_{\text{Ф}}). \qquad (18.28)$$

В обоих случаях искомым параметром является n – кратность общего разбавления в водотоке:

$$n = n_{\text{н}} n_{\text{о}}, \qquad (18.29)$$

где $n_{\text{н}}$ – кратность начального разбавления, $n_{\text{о}}$ – кратность основного разбавления, которые рассчитывается по методу М.А. Руффеля для двух случаев расположения выпуска:

1) выпуск в мелководную часть или в верхнюю треть глубины водоема; загрязненная струя распространяется вдоль берега под воздействием поверхностного течения, имеющего одинаковое с ветром направление;

2) выпуск в нижнюю треть глубины водоема; загрязненная струя распространяется к береговой полосе против выпуска под воздействием донного компенсационного течения, имеющего направление, обратное направлению ветра.

Метод М.А. Руффеля имеет следующие ограничения: глубина зоны смешения не превышает 10 м, расстояние от выпуска до контрольного створа вдоль берега в первом случае не превышает 20 км, расстояние от выхода сточных вод до берега против выпускного оголовка во втором случае не превышает 0,5 км.

Исходные данные:

q – расход сточных вод выпуска, м^3/с;

V – скорость ветра над водой в месте выпуска сточных вод, м/с;

$H_{\text{ср}}$ – средняя глубина водоема вблизи выпуска, м.

Значение $H_{\text{ср}}$ определяется в зависимости от средней глубины водоема H_0 вблизи выпуска на участке протяженностью L по табл. 18.14.

Таблица 18.14

Средняя глубина водоема H_0 в близи выпуска на участке протяженностью различной протяженности

H_0, м	3–4	5–6	7–8	9–10
L^*, м	100	150	200	250

* L – расстояние до контрольного створа.

Алгоритм расчета:

1) Определяется кратность начального разбавления:

– при выпуске в мелководье или в верхнюю треть глубины водоема

$$n_{\text{н}} = \frac{q + 0{,}00215 \cdot VH_{\text{ср}}^2}{q + 0{,}000215 \cdot VH_{\text{ср}}^2};$$

– при выпуске в нижнюю треть глубины

$$n_{\text{н}} = \frac{q + 0{,}00158 \cdot VH_{\text{ср}}^2}{q + 0{,}000079 \cdot VH_{\text{ср}}^2};$$

2) Определяется кратность основного разбавления:

– при выпуске в мелководье или в верхнюю треть глубины водоема

$$n_{\text{о}} = 1 + 0{,}412 \cdot \overline{L}^{\left(0{,}627 + 0{,}0002\overline{L}\right)}$$

где $\overline{L} = L / \Delta x$, а $\Delta x = 6{,}53 \cdot H_{\text{ср}}^{1{,}167}$ или определяется по табл. 18.15.

Таблица 18.15

Значение $n_{\text{о}}$, для выпуска в мелководье

$H_{\text{ср}}$, м	L, м						
	500	**1000**	**2000**	**4000**	**6000**	**8000**	**10000**
1	7,68	12,18	22,18	51,57	105,09	204,17	387,79
2	4,86	7,16	11,27	19,84	30,26	43,62	61,01
3	3,84	5,46	8,20	13,28	18,64	24,67	31,63
4	3,29	4,58	6,69	10,39	14,02	17,85	22,00
5	2,94	4,02	5,76	8,73	11,51	14,33	17,27
6	2,69	3,63	5,13	7,63	9,92	12,16	14,45
7	2,51	3,35	4,67	6,85	8,80	10,68	12,56
8	2,37	3,12	4,32	6,25	7,97	9,60	11,20
10	2,16	2,80	3,80	5,41	6,80	8,10	9,36
12	2,02	2,57	3,44	4,83	6,02	7,11	8,16
14	1,91	2,40	3,18	4,40	5,45	6,40	7,30
16	1,82	2,27	2,97	4,08	5,01	5,86	6,65

– при выпуске в нижнюю треть глубины водоема

$$n_{\text{о}} = 1{,}85 + 2{,}32 \cdot \overline{L}^{\left(0{,}41 + 0{,}0064\overline{L}\right)},$$

где $\overline{L} = \dfrac{L}{\Delta x}$, а $\Delta x = 4{,}41 \cdot H_{\text{ср}}^{1{,}167}$ или определяется по табл. 18.16.

Таблица 18.16

Значение n_0, для выпуска в нижнюю треть глубины водоема

$H_{ср}$, м	L, м						
	50	**100**	**150**	**200**	**300**	**400**	**500**
1	9,34	14,97	23,08	35,39	84,03	203,46	501,50
2	6,60	8,08	11,05	13,58	20,05	29,35	42,99
3	5,65	7,16	8,52	9,88	12,88	16,49	20,95
4	5,12	6,34	7,36	8,33	10,29	12,43	14,86
5	4,77	5,82	6,67	7,44	8,93	10,46	12,10
6	4,52	5,46	6,19	6,85	8,08	9,28	10,53
7	4,33	5,18	5,84	6,43	7,48	8,49	9,50
8	4,17	4,96	5,57	6,10	7,03	7,91	8,77
10	3,93	4,63	5,16	5,62	6,40	7,11	7,14
12	3,76	4,39	4,87	5,28	5,96	6,57	7,14
14	3,62	4,21	4,65	5,02	5,64	6,18	6,67
16	3,51	4,06	4,47	4,81	5,38	5,87	6,32

Пример расчета НДС загрязняющих веществ в водоем. Выпуск бытовых сточных вод после очистки осуществляется в озеро, которое в период весеннего половодья и многоводные годы может соединяться с рекой.

Исходные данные.

Озеро – рыбохозяйственный водоем 1-й категории.

Выпуск производится в верхнюю треть озера.

Выпуск осуществляется в застойную зону глубиной 0,35–0,45 м.

Расстояние до контрольного створа от места выпуска – 300 м.

Тип течения в озере – ветровое.

Скорость устойчивого ветра $V = 1{,}3$ м/с.

Расход сточных вод $q = 0{,}0015$ м^3/с = 5,4 м^3/час = 129,6 м^3/сут.

Гидрохимическая характеристика водоема и сточных вод приведена в табл. 18.17.

Таблица 18.17

Гидрохимические данные водоема выше сброса (фон, озеро, берег) и сточных вод (мг/дм^3)

№ п/п	Показатели свойства вод	Фон	Сточные воды	ПДК
Общие требования				
1.	Взвешенные вещества	29,2	146,6	29,95
2.	$БПК_{полн.}$	6,23	6,77	3
3.	Сухой остаток	192,0	493,5	1000
Токсикологический показатель				
1.	Аммоний солевой (NH_4)	7,8	29,3	0,5
2.	Нитрит-ион ($N0_2$)	0,057	1,5	0,08
3.	Железо общее ($Fe_{общ..}$)	5,5	6,75	од
Санитарно-токсикологический показатель				
1.	Нитрат-ион (NO_3)	10,38	74,99	40
2.	Алкилсульфонат (СПАВ)	0,12	0,26	0,5
3.	Хлориды (Cl)	11,4	198	300
4.	Сульфаты ($S0_4$)	25	408,0	100
Рыбохозяйственный показатель				
1.	Нефтепродукты	0,02	0,21	0,05

Расчет кратности разбавления. Расчет кратности разбавления сточных вод в водоеме производится по методу М.А. Руффеля, так как в водоеме преобладают устойчивые ветровые течения. Выпуск осуществляется в верхнюю мелководную треть водоема. Глубина зоны смешения 0,45 м (не больше 10 м, что допустимо для метода М.А. Руффеля). Расстояние от выпуска до противоположного берега 300 м, что не больше установленных 500 м.

По данному методу кратность полного разбавления сточных вод подсчитывается по результатам начального разбавления, происходящего непосредственно у выпуска, и основного, которое продолжается по мере удаления от места выпуска.

Расчет производится по формуле:

$$n_{\text{н}} = \frac{q + 0{,}00215 \cdot VH_{\text{ср}}^2}{q + 0{,}000215 \cdot VH_{\text{ср}}^2},$$

где q – расход сточных вод, равный 0,0015 м^3/с; V – скорость ветра над водной поверхностью в месте выпуска сточных вод, равный 1,3 м/с; $H_{\text{ср}}$ – средняя глубина водоема вблизи выпуска, равная 0,45 м.

$$n = \frac{0{,}0015 + 0{,}00215 \cdot 1{,}3 \cdot (0{,}45)^2}{0{,}0015 + 0{,}000215 \cdot 1{,}3 \cdot (0{,}45)^2} = \frac{0{,}0021}{0{,}0016} = 1{,}31.$$

Кратность основного разбавления вычисляется по формуле:

– при выпуске в верхнюю треть глубины водоема

$$n_{\text{о}} = 1 + 0{,}412 \cdot \overline{L}^{(0{,}627 + 0{,}0002\overline{L})},$$

где $\overline{L} = \dfrac{L}{\Delta x}$, L – расстояние от выпуска до контрольного створа, м,

$$\Delta x = 6{,}53 \cdot H_{cp}^{1{,}167} = 6{,}53 \cdot (0{,}45)^{1{,}167} = 2{,}57$$

$$\overline{L} = \frac{L}{\Delta x} = \frac{300}{2{,}57} = 116{,}7$$

$$n_{\text{о}} = 1 + 0{,}412 \cdot 116{,}7^{(0{,}627 + 0{,}0002 \cdot 116{,}7)} = 10{,}105$$

Кратность общего разбавления

$$n = n_{\text{н}} \cdot n_{\text{о}}, \quad n = 1{,}31 \cdot 10{,}10 = 13{,}23.$$

Определение концентраций, допустимых к сбросу $C_{\text{НДС}}$

<u>Общие требования</u>

1) Взвешенные вещества:

$C_{\text{ф}} = 29{,}2$ мг/дм^3; $C_{\text{ст}} = 146{,}6$ мг/дм^3;

$C_{\text{ПДК}} = C_{\text{ф}} + 0{,}75 = 29{,}95$ мг/дм^3.

$C_{\text{НДС}} = 29{,}2 + 13{,}23 \cdot 0{,}75 = 39{,}12$ мг/дм^3.

2) БПК$_{\text{П}}$

$C_{\text{ф}} = 6{,}23$ мг/дм^3; $C_{\text{ст}} = 6{,}77$ мг/дм^3; $C_{\text{ПДК}} = 3$ мг/дм^3.

Повышенное значение БПК обусловлено природными процессами. Поэтому пока не установлены региональные ПДК, принимаем $C_{НДС}$ = $C_ф$ = = 6,23 мг/дм^3.

3) Сухой остаток.

$C_ф$ = 192 мг/дм^3; $C_{ст}$ = 493,5 мг/дм^3; $C_{ПДК}$ = 1000 мг/дм^3.

Имеет место соотношение $C_ф < C_{ст} < C_{ПДК}$.

Принимаем $C_{НДС} = C_{ст}$ = 493,5 мг/дм^3.

<u>Группа веществ с ЛПВ – токсикологический</u>

Определим загруженность фона озера по NH_4, NO_2 и Fe.

$$\sum_1^3 \left(\frac{C_ф}{C_{ПДК}} \right)_I = \frac{7,8}{0,5} + \frac{0,057}{0,08} + \frac{5,5}{0,1} = 15,6 + 0,71 + 55 = 71,31.$$

Фон озера по веществам, входящим в группу ЛПВ – токсикологический, – загруженный, поэтому для этих веществ НДС принимается из условия сохранения фона.

1) Аммоний солевой $C_{НДС} = C_ф$ = 7,8 мг/дм^3.

2) Железо $C_{НДС} = C_ф$ = 5,5 мг/дм^3.

3) Нитрит ион $C_{НДС} = C_ф$ = 0,057 мг/дм^3.

<u>Группа веществ с ЛПВ – санитарно-токсикологический</u>

Определяем загруженность фона по NO_3, СПАВ, хлоридам и сульфатам:

$$\sum_1^4 \frac{C_ф}{C_{ПДК}} = \frac{10,8}{40} + \frac{0,12}{0,5} + \frac{11,4}{300} + \frac{25}{100} = 0,27 + 0,24 + 0,038 + 0,25 = 0,798 < 1.$$

С учетом суммации для определения НДС для каждого вещества принимаем приведенный ПДК

$$(ПДК_П)_i = \left(\alpha \frac{ПДК}{m} \right)_i,$$

где m – количество веществ, входящих в эту группу; α_i – коэффициент распределения доли i-го загрязняющего вещества в группе.

Принимается: для нитратов $\alpha_1 = 1,2$; для СПАВ $\alpha_2 = 1,0$; для хлоридов $\alpha_3 = 0,6$; для сульфатов $\alpha_4 = 1,2$.

Проверка: $\sum_1^m \alpha_i = 1,2 + 1,0 + 0,6 + 1,2 = 4.$

1) Нитраты

$C_ф$ = 10,38 мг/дм^3; $C_{ст}$ = 74,99 мг/дм^3; $C_{ПДК} = 1,2 \cdot \frac{40}{4} = 12,0$ мг/дм^3

$C_{НДС}$ = 10,38+13,23·(12,0– 10,38)=31,81 мг/дм^3.

2) СПАВ

$C_ф = 0{,}12$ мг/дм^3; $C_{ст} = 0{,}26$ мг/дм^3;

$$C_{ПДК} = 1{,}0 \cdot \frac{0{,}5}{4} = 0{,}125 \text{ мг/дм}^3,$$

$C_{НДС} = 0{,}12 + 13{,}23 \cdot (0{,}125 - 0{,}12) = 0{,}186$ мг/дм^3.

Принимаем $C_{НДС} = 0{,}186$ мг/дм^3.

3) Хлориды

$C_ф = 11{,}4$ мг/дм^3; $C_{ст} = 198$ мг/дм^3; $C_{ПДК} = 0{,}6 \cdot \frac{300}{4} = 45{,}0$ мг/дм^3

$C_{НДС} = 11{,}4 + 13{,}23 \cdot (45 - 11{,}4) = 454{,}92$ мг/дм^3 > $C_{ст.}$

Принимаем $C_{НДС} = C_{ст} = 198$ мг/дм^3.

4) Сульфаты $C_ф = 25$ мг/дм^3; $C_{ст} = 408$ мг/дм^3;

$C_{ПДК} = 1{,}2 \cdot \frac{100}{4} = 30{,}0$ мг/дм^3 $C_{НДС} = 25 + 13{,}23 \cdot (30 - 25) = 91{,}15$ мг/дм^3.

<u>Группа веществ с ЛПВ – рыбохозяйственный</u>

1. Нефтепродукты

$C_ф = 0{,}02$ мг/дм^3; $C_{ст} = 0{,}21$ мг/дм^3; $C_{ПДК} = 0{,}05$ мг/дм^3;

$C_{НДС} = 0{,}02 + 13{,}23 \cdot (0{,}05 - 0{,}02) = 0{,}416$ мг/дм^3.

Так как $C_{НДС}$ (расчетное) > $C_{ст}$ принимаем $C_{НДС} = C_{ст} = 0{,}21$ мг/дм^3.

Расчет НДС

Расчетный расход сточных вод $q = 5{,}4$ м^3/ч, НДС = $C_{НДС} \cdot q$.

Результат расчета сведен в табл. 18.18:

Таблица 18.18

Результаты расчетов $C_{НДС}$ и НДС рассматриваемого примера

Вещество	$C_{НДС}$, мг/дм^3	НДС г/ч
Взвешенные вещества	39,12	211,248
БПК	6,23	33,642
Сухой остаток	493,5	2664,9
Аммоний солевой	7,8	42,12
Нитриты	0,057	0,307
Железо	5,5	29,7
Нитраты	31,81	171,774
СПАВ	0,186	1,004
Хлориды	198	1069,2
Сульфаты	91,15	492,21
Нефтепродукты	0,21	1,13

18.9.7. ПРИМЕР ОФОРМЛЕНИЯ НОРМАТИВОВ ДОПУСТИМОГО И ФАКТИЧЕСКОГО СБРОСА ВЕЩЕСТВ И МИКРООРГАНИЗМОВ

В табл. 18.19 и 18.20 в качестве примеров приведены данные по оформлению утвержденных нормативов допустимого сброса веществ и микроорганизмов одного из нижегородских промышленных предприятий.

1. Наименование водного объекта и водохозяйственного участка **р. XXX.**

2. Цели использования водного объекта: сброс производственно-ливневых сточных вод.

3. Место сброса сточных и (или) дренажных вод (географические координаты) широта XX°XX′XX″ долгота XX°XX′XX″.

4. Категория сточных вод: загрязненные без очистки.

5. Утвержденный расход сточных вод для установления НДС:
1099,7 м^3/ч, или 1922,1 тыс. м^3/год.

6. Утвержденный норматив допустимого сброса веществ и микроорганизмов.

6.1. Утвержденный норматив допустимого сброса веществ в водный объект.
(сброс веществ, не указанных ниже, запрещен).

Таблица 18.19

Утвержденный норматив допустимого сброса микроорганизмов в водный объект

Наименование выпуска: **выпуск X**

№ п/п	Показатели по видам микроорганизмов	Допустимое содержание (КОЕ/100 мл, БОЕ/100 мл)	Утвержденный допустимый норматив сброса микроорганизмов, ед/ч
1	2	3	4
1	Общие колиформные бактерии	Не более 500	54985,0
2	Термотолерантные колиформные бактерии	Не более 100	109970
3	Колифаги	Не более 10	10997

7. Утвержденные свойства сточных вод:

1) плавающие примеси (вещества) *не допускаются*
2) окраска *отсутствие*
3) запахи, привкусы *отсутствие*
4) температура (°С) *не более 28°С летом, не более 8°С зимой*
5) реакция (pH) *6,5–8,5*
6) коли-индекс *не более 1000*
7) растворенный кислород *4–6 мг/дм^3*
8) ХПК *15 мг O_2 /дм^3*
9) $БПК_{полн.}$ *3 мг/л*
10) минерализация *1000 мг/л*

Таблица 18.20

Наименование выпуска: **выпуск *X***

Наименование веществ	Класс опас–ности	Факти–ческая конц-я, мг/дм^3	ПДК$_{р.х.}$	Допустимая концентрация мг\дм^3	Утвержденный норматив допустимого сброса веществ									
					январь		февраль		март		апрель		май	
					г/ч	т/мес.	г/ч	т/мес.	г/ч	т/мес.	г/ч	т/мес.	г/ч	т/мес.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Взвешенные вещества	–	13,0	17,55	13,0	14296,1	2,08	14296,1	2,08	14296,1	2,08	14296,1	2,08	14296,1	2,08
Нефтепродукты	3	0,097	0,05	0,05	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008
СПАВ (анионактивные)	4			0,027	29,7	0,004	29,7	0,004	29,7	0,004	29,7	0,004	29,7	0,004
Железо общее	4	0,05	0,1	0,05	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008
Аммоний-ион	4	0,6	0,5	0,5	549,9	0,08	549,9	0,08	549,9	0,08	549,9	0,08	549,9	0,08
Фосфаты	4э	0,53	0,2	0,2	219,9	0,032	219,9	0,032	219,9	0,032	219,9	0,032	219,9	0,032
Сульфаты	4	43,7	100	43,7	48057,0	7,0	48057,0	7,0	48057,0	7,0	48057,0	7,0	48057,0	7,0
Медь	3	0,0099	0,010	0,001	1,1	0,0002	1,1	0,0002	1,1	0,0002	1,1	0,0002	1,1	0,0002
Олово	4	0,018	0,112	0,018	19,76	0,003	19,76	0,003	19,76	0,003	19,76	0,003	19,76	0,003
Свинец	2	0,006	0,0098	0,006	6,6	0,001	6,6	0,001	6,6	0,001	6,6	0,001	6,6	0,001
Цинк	3	0,007	0,01	0,007	7,70	0,0011	7,70	0,0011	7,70	0,0011	7,70	0,0011	7,70	0,0011

Окончание табл. 18.20

Наименование веществ	Утвержденный норматив допустимого сброса веществ														Утвержденный норматив допустимого сброса веществ, т/год
	июнь		июль		август		сентябрь		октябрь		ноябрь		декабрь		
	г/ч	т/мес.	г/ч	т/мес.	г/ч	т/мес.	г/ч	т/мес.	г/ч	т/мес.	г/ч	т/мес.	г/ч	т/мес.	
	16	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**	**22**	**23**	**24**	**25**	**26**	**27**	**28**	**29**	**30**
Взвешенные вещества	14296,1	2,08	14296,1	2,08	14296,1	2,08	14296,1	2,08	14296,1	2,08	14296,1	2,08	14296,1	2,08	**24,96**
Нефтепродукты	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	**0,096**
СПАВ (анио-нактивные)	29,7	0,004	29,7	0,004	29,7	0,004	29,7	0,004	29,7	0,004	29,7	0,004	29,7	0,004	**0,048**
Железо общее	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	55,0	0,008	**0,096**
Аммоний-ион	549,9	0,08	549,9	0,08	549,9	0,08	549,9	0,08	549,9	0,08	549,9	0,08	549,9	0,08	**0,96**
Фосфаты	219,9	0,032	219,9	0,032	219,9	0,032	219,9	0,032	219,9	0,032	219,9	0,032	219,9	0,032	**0,384**
Сульфаты	48057,0	7,0	48057,0	7,0	48057,0	7,0	48057,0	7,0	48057,0	7,0	48057,0	7,0	48057,0	7,0	**84,0**
Медь	1,1	0,0002	1,1	0,0002	1,1	0,0002	1,1	0,0002	1,1	0,0002	1,1	0,0002	1,1	0,0002	**0,0024**
Олово	19,76	0,003	19,76	0,003	19,76	0,003	19,76	0,003	19,76	0,003	19,76	0,003	19,76	0,003	**0,036**
Свинец	6,6	0,001	6,6	0,001	6,6	0,001	6,6	0,001	6,6	0,001	6,6	0,001	6,6	0,001	**0,012**
Цинк	7,70	0,0011	7,70	0,0011	7,70	0,0011	7,70	0,0011	7,70	0,0011	7,70	0,0011	7,70	0,0011	**0,013**

Глава 19

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КЛАССА ОПАСНОСТИ ТОКСИЧНЫХ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА И ПОТРЕБЛЕНИЯ

Промышленные отходы являются наиболее важным источником химического загрязнения почв как через контактирующие с почвой среды (воздух, вода), так и при размещении отходов на полигонах и свалках. При этом особое значение приобретает вопрос определения степени опасности (токсичности) отхода, являющийся ключевым при принятии экологически корректных управленческих решений по обращению с отходами. В настоящее время действуют два нормативных документа, регламентирующих определение токсичности (опасности) промышленных отходов. Первый из них – «Критерии отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды» – разработан Министерством природных ресурсов (МПР) РФ. Второй – «Санитарные правила по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления. СП 2.1.7.1386-03» – разработан Минздравсоцразвития РФ. В 2014 г. введен в действие новый Федеральный классификационный каталог отходов (ФККО), представляющий собой «*… перечень видов отходов, находящихся в обращении в РФ и систематизированных по совокупности классификационных признаков: происхождению, условиям образования (принадлежности к определенному производству, технологии), химическому и (или) компонентному составу, агрегатному состоянию и физической форме*». Код каждого вида отходов имеет 11-значную структуру. Первые восемь знаков используют для кодирования происхождения отходов, их состава, девятый и десятый знаки кода – для кодирования агрегатного состояния и физической формы. Одиннадцатый знак показывает класс опасности отхода в зависимости от степени негативного воздействия на окружающую среду. Если в одиннадцатом знаке стоит «0», то это значит, что мы имеем дело с блоком, типом, подтипом, группой, подгруппой отходов; для видов отходов значащая цифра «1» обозначает I класс опасности; «2» – II класс; «3» – III класс; «4» – IV класс; «5» – V класс опасности отхода. На отходы I–IV классов должен быть оформлен паспорт, который составляется на основе данных о составе и свойствах этих отходов, оценки их опасности[50].

[50] «Правила проведения паспортизации отходов I-IV классов» (утв. – Постановлением Правительства РФ от 16.08.2013 №712).

19.1. КРИТЕРИИ ОТНЕСЕНИЯ ОПАСНЫХ ОТХОДОВ К КЛАССУ ОПАСНОСТИ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ ПРИРОДНОЙ СРЕДЫ

(Критерии отнесения… 2001)

Данный документ реализует требования статьи 14 Федерального закона «Об отходах производства и потребления».

Цитата	**Закон РФ «Об отходах производства и потребления» 29.12.2000 г. № 169-ФЗ**

Статья 14. Требования к обращению с опасными отходами.

1. Опасные отходы в зависимости от степени их вредного воздействия на окружающую природную среду и здоровье человека подразделяются на классы опасности в соответствии с критериями, установленными специально уполномоченными федеральными органами исполнительной власти в области обращения с отходами в соответствии со своей компетенцией.
2. Индивидуальные предприниматели и юридические лица, в процессе деятельности которых образуются опасные отходы, обязаны подтвердить отнесение данных отходов к конкретному классу опасности в порядке, установленном специально уполномоченными федеральными органами исполнительной власти в области обращения с отходами.
3. На опасные отходы должен быть составлен паспорт. Паспорт опасных отходов составляется на основании данных о составе и свойствах опасных отходов, оценки их опасности. Порядок паспортизации определяет Правительство Российской Федерации.

Деятельность индивидуальных предпринимателей и юридических лиц, в процессе которой образуются опасные отходы, может быть ограничена или запрещена в установленном законодательством Российской Федерации порядке при отсутствии технической или иной возможности обеспечить безопасное для окружающей природной среды и здоровья человека обращение с опасными отходами.

Отнесение отхода к классу опасности для окружающей природной среды может осуществляться расчетным или экспериментальным методами.

Расчетный метод. Расчетный метод отнесения отхода к одному из пяти классов опасности осуществляется на основании показателя степени опасности отхода для окружающей среды (ОС) – K. Показатель K характеризует степень опасности отхода при его воздействии на ОС и рассчитывается по сумме показателей опасности веществ, составляющих отход (т.е. компонентов отхода) для ОС:

$$K = \sum_{i=1}^{n} K_i', \qquad (19.1)$$

где K_i' – показатель степени опасности для ОС i-го компонента отхода.

Перечень компонентов отхода и их количественное содержание устанавливаются по составу исходного сырья, технологическим процессам его переработки или по результатам количественного химического анализа.

Показатель степени опасности для ОС компонента отхода (K_i') рассчитывается как отношение концентрации компонента отхода (C_i) к коэффициенту степени его опасности (W_i):

$$K_i' = C_i / W_i \,. \qquad (19.2)$$

Коэффициент степени опасности для ОС компонента отхода (W_i) является условным показателем, численно равным количеству компонента отхода, ниже значения которого он не оказывает негативного воздействия на ОС. Размерность W_i условно принимается равной мг/кг.

Класс опасности отходов устанавливается по степени возможного вредного воздействия на ОС при непосредственном или опосредованном воздействии опасного отхода на нее в соответствии с критериями, приведенными в табл. 19.1, 19.3, 19.4.

Таблица 19.1

Критерии отнесения опасных отходов к классу опасности

№ п/п	Степень вредного воздействия опасных отходов на ОС	Критерии отнесения опасных отходов к классу опасности для ОС	Класс опасности отхода для ОС
1	Очень высокая	Экологическая система необратимо нарушена. Период восстановления отсутствует	I класс, чрезвычайно опасные
2	Высокая	Экологическая система сильно нарушена. Период восстановления не менее 30 лет после полного устранения источника вредного воздействия	II класс, высоко-опасные
3	Средняя	Экологическая система нарушена. Период восстановления не менее 10 лет после снижения вредного воздействия от существующего источника	III класс, умеренно опасные
4	Низкая	Экологическая система нарушена. Период самовосстановления не менее 3 лет	IV класс, малоопасные
5	Очень низкая	Экологическая система практически не нарушена	V класс, практически неопасные

Необходимость установления класса опасности отхода предусматривается требованиями Федерального классификационного каталога отходов. В случае отнесения отхода расчетным методом к V классу опасности необходимо его подтверждение экспериментальным методом. При отсутствии подтверждения V класса опасности экспериментальным методом отход может быть отнесен к IV классу опасности.

Таким образом, коэффициент W_i выполняет функцию нормативного показателя (аналог ПДК), показатель степени опасности компонента отхода K'_i показывает кратность превышения фактической концентрации отхода C_i над условным нормативом W_i, а показатель степени опасности отхода K на основе аддитивной модели суммирует кратности превышения концентраций всех компонентов отхода (K'_i) над их условными нормативами (W_i)

$$K = \sum_{i=1}^{n} K'_i = \sum_{i=1}^{n} C_i / W_i \ .$$

Ключевым моментом в алгоритме расчета K является определение W_i. Для некоторых веществ значения W_i приведены в Приложении 2.

Таблица 19.2

Степень опасности компонентов отхода

№ п/п	Первичные показатели опасности компонента отхода	Степень опасности компонента отхода для ОС по каждому компоненту отхода			
		1	**2**	**3**	**4**
1	$ПДК_п$* (ОДК**), мг/кг	1	1–10	10.1–100	>100
2	Класс опасности в почве	1	2	3	Не установ.
3	$ПДК_в$ (ОДУ, ОБУВ), мг/л	<0.01	0.01–0.1	0.11–1	>1
4	Класс опасности в воде хозяйственно-питьевого использования	1	2	3	4
5	$ПДК_{р.х.}$ (ОБУВ), мг/л	<0.001	0.001–0.1	0.011–0. 1	>0.1
6	Класс опасности в воде рыбохозяйственного использования	1	2	3	4
7	$ПДК_{с.с.}$($ПДК_{м.р.,}$ОБУВ), мг/м^3	0.01	0.01–0.1	0.11–1	>1
8	Класс опасности в атмосферном воздухе	1	2	3	4
9	$ПДК_{пп}$ (МДУ, МДС), мг/кг	0.01	0.01–1	1.1–10	>10
10	lg (S,мг/л/ПДК в,мг.л)***	>5	5–2	1.9–1	<1
11	lg ($C_{нас}$, мг/м^3/$ПДК_{р.з}$)	>5	5–2	1.9–1	<1
12	lg ($C_{нас}$, мг/м^3/$ПДК_{с.с.}$ или $ПДК_{м.р.}$)	>7	7–3.9	3.8–1.6	<1.6
13	lg K_{ow} (октанол/вода)	>4	4–2	1.9–0	<0
14	LD_{50}, мг/кг	<15	15–150	151–5000	>5000
15	LD_{50} (кожн.), мг/кг	<100	100–500	501–2500	>2500
16	LC_{50}, мг/м^3	<500	500–5000	5001–50000	>50000
17	LC_{50} (водн), мг/л, 96ч	<1	1–5	5.1–100	>100
18	БД = ($БПК_5$/ХПК)·100,%	0.1	0.01–1.0	1.0–10	>10
19	Персистентность (трансформация в окружающей природной среде)	Образование более токсичных продуктов, в т.ч. обладающих отдаленными эффектами или новыми свойствами	Образование продуктов с более выраженным влиянием других критериев опасности	Образование продуктов, токсичность которых близка к токсичности исходного вещества	Образование менее токсичных продуктов
20	Биоаккумуляция (поведение в пищевой цепочке)	Выраженное накопление во всех звеньях	Накопление в нескольких звеньях	Накопление в одном из звеньев	Нет накопления
Баллы		1	2	3	4

* Используемые сокращения приведены в Приложении 1.

** В случаях отсутствия ПДК токсичного компонента отхода допустимо использование другой нормативной величины, указанной в скобках.

*** Если S = бесконечно, то lg (S / ПДК) = 1, если S = 0, то lg (S / ПДК) = 0

Коэффициент W_i рассчитывается по одной из следующих формул:

$$\lg W_i = \begin{cases} 4 - \dfrac{4}{Z_i} & \text{при } 1 \le Z_i \le 2, \\ Z_i, & \\ 2 + \dfrac{4}{6 - Z_i} & \text{при } 4 \le Z_i \le 5. \end{cases} \qquad (19.3)$$

Вспомогательный показатель Z_i вычисляется по формуле (19.4):

$$Z_i = (4\overline{X_i} - 1)/3, \qquad (19.4)$$

где $\overline{X_i}$ – относительный параметр опасности компонента отхода, баллы.

Для вычисления величины $\overline{X}_i$ необходимо с помощью табл. 19.2 установить степень опасности каждого компонента отхода для различных природных сред в баллах, просуммировать их и полученную сумму разделить на число использованных показателей:

$$\overline{X_i} = \frac{1}{k_{\max}} \sum_{k=1}^{k_{\max}} B_{kl}, \qquad (19.5)$$

где B_{kl} – бальная оценка i-го компонента отхода по каждому k-му учитываемому первичному показателю опасности из табл. 19.2, k – число учитываемых показателей (k = 1–20), для учитываемых баллов l = 1–4, $k_{\max} \le 20$.

Для определения $\overline{X_i}$ пользуются экспериментальными данными, а также справочными материалами.

Для учета недостатка информации по первичным показателям степени опасности компонентов отхода, включенным в табл. 19.2, дополнительно используется показатель информационного обеспечения. Этот показатель рассчитывается путем деления числа установленных показателей $k_{\max}$ из табл. 19.2 на N = 12, т.е. количество наиболее значимых первичных показателей. В зависимости от величины показателя информационного обеспечения, ему с помощью табл. 19.3, присваивается балл от 1 до 4, который учитывается при расчете $\overline{X_i}$.

Таблица 19.3

Диапазоны изменения показателя информационного обеспечения

Диапазоны изменения показателя информационного обеспечения (k_{max} /N)	**Балл**
< 0,5 (k_{max} /N < 6)	1
0,5–0,7 (k_{max} /N = 6–8)	2
0,71–0,9 (k_{max} /N = 9–10)	3
> 0,9 (k_{max} /N > 11)	4

Комментарий.

Очевидно, что отход, содержащий неорганические* или органические** компоненты, являющиеся практически неопасными, т.е. со средним баллом $\overline{X_i}$ = 4 имеет коэффициент степени опасности lg W_i = 6 или $W = 10^6$. Действительно, при $\overline{X}_i = 4$, $Z_i = (4 \cdot 4 - 1)/3 = 5$, тогда lg $W_i = 2 + [4/(6 - 5)] = 6$ и $W = 10^6$. Аналогично, в гипотетическом случае, когда все компоненты отхода относятся к 1-й степени опасности (табл. 19.2), то $\overline{X_i} = 1$ $Z_i = (4 \cdot 1 - 1)/3 = 1$, тогда lg $W_i = = 4 - (4/1) = 0$ и $W_i = 10° = 1$.

Таким образом, алгоритм предусматривает диапазон изменений коэффициента степени опасности компонента отхода W в интервале $1 \div 10^6$.

* Кислород, азот, углерод, фосфор, сера, кремний, алюминий, железо, натрий, кальций, магний, титан в концентрациях не превышающих их содержание в основных типах почв;

** Углеводы (крахмал, клетчатка, иное), белки, азотсодержащие органические соединения (аминокислоты, амиды, иное) – т.е. встречающиеся в живой природе.

Отнесение отходов к классу опасности расчетным методом по показателю степени опасности отхода для ОС осуществляется в соответствии с табл. 19.4.

Таблица 19.4

Класс и степень опасности отхода

Класс опасности отхода	Степень опасности отхода для ОС (К)
I	$10^6 \geq K > 10^4$
II	$10^4 \geq K > 10^3$
III	$10^3 \geq K > 10^2$
IV	$10^2 \geq K > 10$
V	$10 \geq K$

Экспериментальный метод. Экспериментальный метод осуществляется в специализированных аккредитованных лабораториях и используется в следующих случаях:

– для подтверждения отнесения отходов к V классу опасности, установленному расчетным методом;

– при отнесении к классу опасности отходов, у которых невозможно определить их качественный и количественный состав;

– при уточнении по желанию и за счет заинтересованной стороны класса опасности опасных отходов, полученного в соответствии с Приложением 2 или расчетным методом.

Экспериментальный метод основан на биотестировании водной вытяжки отходов.

В случае присутствия в составе отхода органических или биогенных веществ, проводится тест на устойчивость к биодеградации для решения вопроса о возможности отнесения отхода к классу меньшей опасности. Устойчиво-

стью отхода к биодеградации является способность отхода или отдельных его компонентов подвергаться разложению под воздействием микроорганизмов.

При определении класса опасности отхода для ОС с помощью метода биотестирования водной вытяжки применяется не менее двух тест-объектов из разных систематических групп (дафнии и инфузории, цериодафнии и бактерии или водоросли и т.п.). За окончательный результат принимается класс опасности, выявленный на тест-объекте, проявившем более высокую чувствительность к анализируемому отходу.

Для подтверждения отнесения отходов к пятому классу опасности для ОС, установленному расчетным методом, определяется воздействие только водной вытяжки отхода без ее разведения. Класс опасности устанавливается по кратности разведения водной вытяжки, при которой не выявлено воздействие на гидробионтов в соответствии со следующими диапазонами кратности разведения в соответствии с табл. 19.5.

Таблица 19.5

Кратность разведения водной вытяжки из опасного отхода

Класс опасности отхода	**Кратность разведения водной вытяжки из опасного отхода, при которой вредное воздействие на гидробионтов отсутствует**
I	> 10000
II	От 1001 до 10000
III	От 101 до 1000
IV	От 1 до 100
V	< 1

Вопросы пробоотбора и пробоподготовки для процедуры биотестирования подробно описаны в главе 8.

Приложение 1

Перечень сокращений

$ПДК_п$ (мг/кг)	–	предельно допустимая концентрация вещества в почве;
ОДК	–	ориентировочно допустимая концентрация;
$ПДК_в$ (мг/л)	–	предельно допустимая концентрация вещества в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования;
ОДУ	–	ориентировочно допустимый уровень;
ОБУВ	–	ориентировочный безопасный уровень воздействия;
$ПДК_{р.х.}$ (мг/л)	–	предельно-допустимая концентрация вещества в воде водных объектов рыбохозяйственного назначения;
$ПДК_{с.с.}$ (мг/м^3)	–	предельно допустимая среднесуточная концентрация вещества в атмосферном воздухе населенных мест;
$ПДК_{м.р.}$ (мг/м^3)	–	предельно допустимая максимально разовая концентрация вещества в воздухе населенных мест;
$ПДК_{р.з.}$ (мг/м^3)	–	предельно допустимая концентрация вещества в воздухе рабочей зоны;
$ПДК_{п.п.}$ (мг/кг)	–	предельно-допустимая концентрация вещества в продуктах питания;
МДС	–	максимально допустимое содержание;
МДУ	–	максимально допустимый уровень;
S (мг/л)	–	растворимость компонента отхода (вещества) в воде при 20°С;
$C_{нас}$ (мг/ м^3)	–	насыщающая концентрация вещества в воздухе при 20°С и нормальном атмосферном давлении;
K_{ow}	–	коэффициент распределения в системе октанол/вода при 20°С;
LD_{50} (мг/кг)	–	средняя смертельная доза компонента в миллиграммах действующего вещества на 1 кг живой массы, вызывающая гибель 50% подопытных животных при однократном пероральном введении в унифицированных условиях;
LD_{50} (кожн) (мг/кг)	–	средняя смертельная доза компонента в миллиграммах действующего вещества на 1 кг живой массы, вызывающая гибель 50% подопытных животных при однократном нанесении на кожу в унифицированных условиях;
LC_{50} (мг/м^3)	–	средняя смертельная концентрация вещества, вызывающая гибель 50% подопытных животных при ингаляционном поступлении в унифицированных условиях;
БД	–	биологическая диссимиляция.

Приложение 2

Коэффициенты *W* для отдельных компонентов опасных отходов

Наименование компонента	X_i	Z_i	$\lg W_i$	W_i
Альдрин	1,857	2,14	2,14	138
Бенз(а)пирен	1,6	1,8	1,778	59,97
Бензол	2,125	2,5	2,5	316,2
Гексахлорбензол	2.166	2,55	2,55	354
2-4 Динитрофенол	1,5	1,66	1,66	39,8
Ди (N)бутилфталат	2	2,33	2,33	215,44
Диоксины	1,4	1,533	1,391	24,6
Дихлорпропен	2.2	2,66	2,66	398
Диметилфталат	2,166	2,555	2,555	358,59
Дихлорфенол	1,5	1,66	1,66	39,8
Дихлордифенилтрихлорэтан	2	2,33	2,33	213,8
Кадмий	1,42	1,56	1,43	26,9
Линдан	2,25	2,66	2,66	463,4
Марганец	2,30	2,37	2,73	537,0
Медь	2.17	2,56	2,56	358,9
Мышьяк	1.58	1,77	1,74	55,0
Нафталин	2,285	2,714	2,714	517,9
Никель	1.83	2,11	2,11	128,8
М-нитрозодифениламин	2,8	3,4	3,4	2511,88
Пентахлорбифенилы	1,6	1,8	1,778	59,98
Пентахлорфенол	1,66	1,88	1,88	75,85
Ртуть	1,25	1,33	1,00	10,0
Стронций	2.86	3,47	3,47	2951
Серебро	2,14	2,52	2,52	331,1
Свинец	1,46	1,61	1,52	33,1
Тетрахлорэтан	2,4	2,866	2,866	735,6
Толуол	2.5	3	3	1000
Трихлорбензол	2.33	2,77	2,77	598,4
Фенол	2	2,33	2,33	215,44
Фураны	2,166	2,55	2,55	359
Хлороформ	2	2,333	2,333	215,4
Хром	1,75	2,00	2,00	100,0

19.2. САНИТАРНЫЕ ПРАВИЛА ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ КЛАССА ОПАСНОСТИ ТОКСИЧНЫХ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА И ПОТРЕБЛЕНИЯ

Законодательной базой рассматриваемых санитарных правил (далее – правил) являются Федеральный закон «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» № 52-ФЗ от 30 марта 1999 г., а также Постановления Правительства Российской Федерации от 24 июля 2000 г. № 554 «Об утверждении Положения о Государственной санитарно-эпидемиологической службе Российской Федерации и Положения о государственном санитарно-эпидемиологическом нормировании».

Целью вводимых правил является установление и предотвращение вредного воздействия токсичных отходов производства и потребления на среду обитания и здоровье человека и регламентирование гигиенических требований и критериев по определению их класса опасности. Следует иметь в виду, что правила не распространяются на радиоактивные, взрыво- и пожароопасные отходы, а также отходы, способные вызывать инфекционные заболевания (пищевые отходы, отходы лечебно-профилактических учреждений, осадки хозяйственно-бытовых сточных вод и т.п.). Отнесение к классам опасности перечисленных категорий отходов производится на основании иных нормативно-методических документов. В соответствии с действующим законодательством требования правил являются обязательными для всех юридических лиц и индивидуальных предпринимателей, занимающихся обращением с отходами производства и потребления.

Общие положения. По степени воздействия на человека и окружающую среду отходы производства и потребления распределяются на четыре класса опасности:

– 1-й класс – чрезвычайно опасные,

– 2-й класс – высокоопасные,

– 3-й класс – умеренно опасные,

– 4-й класс – малоопасные.

В этом отношении «Санитарные правила….» (2003) отличаются от «Критериев отнесения…» (2001), которыми предусмотрено введение дополнительного 5-го класса опасности «практически неопасных» отходов.

Правила предусматривают, что определение класса опасности отхода может осуществляться только аккредитованными для данного вида работ организациями, в которых имеются специалисты, прошедшие обучение в специализированных центрах и получившие свидетельство (сертификат) установленного образца на право проведения работ по определению класса опасности токсичных отходов.

Класс опасности отхода может быть определен расчетным и/или экспериментальным методом. Расчетный метод применяется в том случае, если известен качественный и количественный химический состав отхода и в источниках научно-технической литературы имеются необходимые сведения для определения показателей опасности компонентов отхода. В противном случае определение класса опасности производится экспериментально. Экспериментальный метод необходимо применять и в случае отнесения отхода к 4-му классу опасности (малоопасные отходы). Отметим, что аналогичное требование содержится в «Критериях отнесения…» (2001) при установлении 5-го класса опасности отхода. Производитель или собственник отхода может уточнить класс опасности отхода, установленный расчетным путем, с помощью экспериментального метода, привлекая для этой работы аккредитованную организацию.

Качественный и количественный химический состав отхода определяется собственником (производителем) самостоятельно или с привлечением аккредитованных организаций. Относительное содержание каждого компонента в общей массе отхода C_i (в %) должно представлять верхнюю границу содержания данного компонент в общей массе отхода, т.е. соответствовать определе-

нию «не более». Сумма величин C_i для всех компонентов, из которых состоит отход, должна быть близка к 100%, но не менее 95%.

$$95\% \le \sum_{i=1}^{n} C_i \le 100\%,$$

где n – число компонентов отхода. Ответственность за достоверность сведений о составе отхода возлагается на его производителя (собственника).

Определение класса опасности необходимо производить для каждой партии отходов, вывозимых за пределы предприятия, на котором они образовались. При складировании отходов на полигонах (накопителях) предприятия отбор проб для определения класса опасности производится один раз в 3 года при условии неизменности технологического процесса и используемого сырья. Несоблюдение этого условия требует обязательного определения класса опасности образующихся отходов.

Установленный производителем (собственником) класс опасности отхода согласуется с территориальным органом Государственного санитарно-эпидемиологического надзора.

Требования к отбору, транспортировке и хранению проб отходов производства и потребления. Отбор проб отходов проводится для определения их качественного, количественного состава и класса опасности. При отборе, транспортировке и хранении проб необходимо учитывать физико-химические свойства компонентов отхода (агрегатное состояние, однородность, дисперсность, летучесть, химическую активность и др.), чтобы исключить искажение результатов анализа. Отбор проб проводится на пробных площадках, из емкостей накопителя или из источника образования отхода. На каждые 20 га накопителя закладывается не менее одной пробной площадки. На этих пробных площадках отбираются точечные пробы из одного или нескольких горизонтов. Пробы отбираются методом конверта, по диагонали или любым другим способом с таким расчетом, чтобы проба представляла собой типичную часть отхода. Объединенная проба составляется путем смешивания точечных проб (не менее пяти проб), отобранных на одной площадке (одной емкости). Масса объединенной пробы должна быть не менее 1 кг.

Пробы отхода, герметично упакованные в емкости из химически инертного для его компонентов материала, доставляются в лабораторию для химического анализа. Отбор проб документально оформляется соответствующим актом и на каждую пробу составляется сопроводительный талон установленного образца.

Транспортировка твердых сыпучих минеральных отходов в воздушно-сухом виде (кроме ртутьсодержащих) должна осуществляться в любой неметаллической таре не позднее чем через месяц после их отбора. Пробы пастообразных отходов и твердых сыпучих ртутьсодержащих и органических отходов транспортируются в стеклянных, полиэтиленовых или тефлоновых емкостях сразу же после отбора. Транспортировка полужидких отходов осуществляется не позднее чем через неделю после проведения отбора проб в стеклянных или полиэтиленовых емкостях.

19.2.1. РАСЧЕТНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КЛАССА ОПАСНОСТИ ТОКСИЧНЫХ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА И ПОТРЕБЛЕНИЯ

Отнесение отхода к классу опасности расчетным методом осуществляется на основании величины суммарного индекса опасности K, рассчитанного по сумме показателей опасности веществ (компонентов), составляющих отход $(K_i^{'})$:

$$K = \sum_{i=1}^{n} K_i'. \qquad (19.6)$$

Показатель опасности компонента отхода $K_i^{'}$ рассчитывается как отношение концентрации компонента отхода C_i (мг/кг) к коэффициенту степени опасности компонента W_i, размерность которого условно следует принять равной мг/кг:

$$K_i = C_i / W_i. \qquad (19.7)$$

В свою очередь: коэффициент степени опасности компонента отхода W_i определяется из соотношения

$$\lg W_i = 1.2(X_i - 1), \qquad (19.8)$$

где X_i – усредненный параметр опасности компонента отхода.

Таким образом, как и в «Критериях отнесения…» (2001) коэффициент W_i выполняет функцию условного нормативного показателя, численно равного концентрации компонента отхода, ниже значения которого он не оказывает негативного влияния на окружающую среду и здоровье человека (т.е. аналог ПДК). Показатель опасности компонента отхода K_i' показывает кратность превышения фактической концентрации отхода C_i над условным нормативом W_i, а суммарный индекс опасности K' на основе аддитивной модели суммирует кратности превышения концентраций всех компонентов отхода K_i' над их условными нормативами W_i.

Как и в «Критериях отнесения…» (2001), ключевым моментом в алгоритме расчета K является определение W_i, но справедливости ради следует отметить, что в «Санитарных правилах…» (2003) эта процедура упрощена. Для определения W_i вначале необходимо вычислить усредненный параметр опасности компонента отхода – X_i. Для этого служит вспомогательная табл. 19.6, в которой приведены токсикологические, санитарно-гигиенические и физико-химические показатели опасности компонентов отходов.

Для каждого компонента отхода из табл. 19.6 выбираются необходимые показатели, а их конкретные значения находят в нормативных документах и научно-технической литературе. В соответствии с данными табл. 19.6 каждому показателю присваивается балл от 1 до 4.

Таблица 19.6

Токсикологические, санитарно-гигиенические и физико-химические показатели компонентов отходов

№	Показатели опасности		Уровни и критерии опасности			
			1	**2**	**3**	**4**
1	$ПДК_п$ (ОДК) химических веществ (мг/кг)	неорганические	< 5	5–50	51–1000	> 1000
		органические	< 1	1–9,9	10–99,9	> 100
2	$ПДК_в$ (ОДУ) (мг/л)		< 0, 01	0,01–0,1	0,11–1	> 1
3	$ПДК_{р.з.}$ (мг/м^3)		< 0,1	0,1–1	1,1–10	> 10
4	$ПДК_{с.с.\ (м.р.)}$ (ОБУВ) (мг/м^3)		<0,01	0,01–0,1	0,11–1	> 1
5	Класс опасности в воде		1	2	3	4
6	Класс опасности в рабочей зоне		1	2	3	4
7	Класс опасности в атмосферном воздухе		1	2	3	4
8	Класс опасности в почве		1	2	3	4
9	LD_{50} (мг/кг) перорально		< 15	15–150	151–5000	> 5000
10	CL_{50} (мг/м^3)		< 500	500–5000	5001–50000	> 50000
11	Канцерогенность		Доказана для человека	Доказана для животных	Есть вероятность для животных	Неканцерогенность (доказано)
12	lg (S, мг/л/$ПДК_в$)		> 5	5–2	1,9–1	< 1
13	lg ($C_{нас}$, мг/м^3/$ПДК_{р.з.}$)		> 5	5–2	1,9–1	< 1
14	$ПДК_{в.р.}$ (мг/л)		0,001	0,001–0,1	0,11–0,1	> 0,1
15	LD_{50}^{scin} (мг/кг)		< 100	100–500	501–2500	> 2500
16	CL_{50}^{w} (мг/л/96 ч)		< 1	1–5	5,1–100	> 100
17	lg ($C_{нас}$, мг/м^3/$ПДК_{с.с.}$)		> 7	7–3,9	3,8–1,6	< 1,6

18	КВИО	> 300	300–30	29–3	< 3
19	lg K_{ow} (октанол/вода)	> 4	4–2	1,9–0	< 0
20	Персистентность: трансформация в окружающей среде	Образование более токсичных продуктов, в т.ч. обладающих отдаленными эффектами или новыми свойствами	Образование продуктов с более выраженным влиянием др. критериев вредности	Образование продуктов, токсичность которых близка к токсичности исходного вещества	Образование менее токсичных ъпродуктов
21	Биоаккумуляция: поведение в пищевой цепочке	Накопление во всех звеньях	Накопление в нескольких звеньях	Накопление в одном из звеньев	Нет накопления
22	Мутагенность	Обнаружена	Есть возможность проявления для человека	Есть возможность проявления для животных	Отсутствует (доказано)
23	$ПДК_{п.п.}$	< 0,01	0,01–1	1,1–10	> 10
Балл		1	2	3	4

В расчете используют первые двенадцать показателей табл. 19.6. При отсутствии в справочной литературе данных по первым двенадцати показателям используют сведения по остальным показателям. При наличии в источниках информации нескольких значений данного показателя (например, LD_{50} для разных видов животных) выбирается величина, соответствующая максимальной опасности, т.е. минимальное значение LD_{50} и т.д. При отсутствии утвержденных ПДК допускается использование ОБУВ, ОДК и других расчетных нормативов. Для учета недостатка информации по показателям табл. 19.6 дополнительно применяется информационный показатель I, величина которого (в баллах) зависит от полноты информационного обеспечения (т.е. числа использованных показателей, m):

$$I = 4 \text{ при } n = 12–11,$$
$$I = 3 \text{ при } n = 10–9,$$
$$I = 2 \text{ при } n = 8–7,$$
$$I = 1 \text{ при } n \le 6.$$

Усредненный параметр опасности компонента отхода X_i вычисляется делением суммы баллов (B_i) по всем показателям, включая информационный, на общее число использованных показателей:

$$X_i = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} B_i \,. \qquad (19.9)$$

Компоненты отходов, состоящие из таких химических элементов, как кремний, титан, натрий, калий, кальций, углерод, фосфор, сера в концентрациях, не превышающих их содержание в основных типах почв, относятся к практически неопасным компонентам с усредненным параметром опасности компонента $X_i = 4$. При наличии в составе отходов веществ, продуктов с доказанной для человека канцерогенностью, данному компоненту отхода присваивается значение $W_i = 1$, остальные показатели опасности не учитываются, т.е. $K_i = C_i/1 = C_i$.

С учетом вышесказанного понятно, что разработчики санитарных правил заложили в алгоритм вычисления W_i, как условного нормативного показателя, диапазон значений от $W_i = 1$ для компонентов с максимальной опасностью для человека и его среды обитания, в качестве которых выбраны канцерогенные соединения, до $W_i = 3981$ для веществ малоопасных. Действительно, рассмотрим гипотетический случай, когда все компоненты отхода являются чрезвычайно опасными с усредненным параметром опасности компонента $X_i = 1$. Тогда $\lg W_i = 1.2(X_i - 1) = 1.2(1-1) = 0$, , или $W_i = 1$. В альтернативном случае, когда все компоненты отхода являются практически неопасными с усредненным параметром опасности компонента $X_i = 4$, $\lg W_i = = 1.2(X_i - 1) = 1.2(4-1) = 3.6$, или $W_i = 3981$.

Суммарный индекс опасности рассчитывается по формуле $K = \sum_{i=1}^{n} K_i'$, а отнесение отхода к классу опасности проводится с помощью табл. 19.7.

Таблица 19.7

Классификация опасности отходов для здоровья человека и среды обитания человека

Класс опасности	1	2	3	4
Суммарный индекс опасности, *К*	≥ 50000	50000–1000	999–100	< 100

Пример расчета класса опасности отхода. Для отхода с установленными значениями качественного и количественного состава компонентов заполняется рабочая табл. 19.8.

Таблица 19.8

Рабочая таблица показателей опасности и концентраций отдельных компонентов отхода

№ п/п	Показатели опасности	Наименование компонента отхода и его концентрация (C_i), мг/кг						Источник информации
		Компонент 1		Компонент 2		Компонент *n*		
		Численное значение	Баллы	Численное значение	Баллы	Численное значение	Баллы	
1	$ПДК_п$							
2	$ПДК_в$							
3	$ПДК_{р.з.}$							
…	……	……...	…….	……	…….	…….	…….	
m								
X_i								
W_i								
K_i								

Необходимо обратить внимание на правильность и полноту библиографического описания источников информации, что может существенно облегчить процедуру согласования класса опасности отхода в территориальных органах Государственного санитарно-эпидемиологического надзора.

В качестве примера рассмотрим расчет показателей опасности компонентов гипотетического отхода, содержащего в своем составе цинк (58,5 мг/кг), медь (1,7 мг/кг), кадмий (41,5 мг/кг) (табл. 19.9). На основе данных, приведенных в табл. 19.9, рассчитаем показатели опасности для цинка, меди и кадмия.

Цинк. Для анализа использовано 9 показателей опасности, следовательно, информационный показатель $I = 3$. Сумма баллов по всем показателям, включая информационный показатель, равна 25. Значение усредненного параметра опасности компонента отхода X_i, составляет 2,5. Величина $\lg W_i = 1{,}2(2{,}5–1) = 1{,}8$; отсюда $W_i = 63$, а $K_i = 58{,}5 : 63 = 0{,}92$.

Медь. Алгоритм расчета для меди полностью аналогичен предыдущему.

Кадмий. Поскольку для кадмия доказаны канцерогенные свойства по отношению к человеку, данному компоненту отхода присваивается значение $W_i = 1$, остальные показатели опасности не учитываются, т.е. $K_i = C_i/1 = C = 41{,}5$.

Таблица 19.9

Расчет показателей опасности гипотетического отхода

№	Показатели опасности	Наименование компонента отхода и его концентрация (C_i), мг/кг						Источник информации
		Цинк (58,5 мг/кг)		Медь (1,7 мг/кг)		Кадмий (41,5)		
		Численное значение	Баллы	Численное значение	Баллы	Численное значение	Баллы	
1	$ПДК_п$	23 мг/кг	2	3 мг/кг	2			НТД*
2	$ПДК_в$	5 мг/л	4	1 мг/л	3			НТД
3	$ПДК_{р.з.}$	0,5 мг/м^3	2	1 мг/м^3	2			НТД
4	ПДКм.р.	0,02 мг/м^3	2	0,002 мг/м^3	1			НТД
5	Класс опасности в почве	1	1	2	2			НТД
6	Класс опасности в воде	3	3	3	3			НТД
7	Класс опасности в рабочей зоне	2	2	3	3			НТД
8	Класс опасности в воздухе атмосферы	4	4	2	2			НТД
9	LD_{50}	47 мг/кг	2	43 мг/кг	2			НТД
10	Канцерогенность					Доказана для человека	1	НТД
X_i		2,5		2,3		1		НТД
W_i		63		36,3		1		НТД
K_i		0,92		0,05		41,5		НТД

*НТД – нормативно-техническая документация.

Результаты расчетов по определению класса опасности отходов производства и потребления оформляются в виде заключения и отчета и заверяются руководителем организации, проводившей эту работу.

19.2.2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КЛАССА ОПАСНОСТИ ТОКСИЧНЫХ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА И ПОТРЕБЛЕНИЯ

Экспериментальная оценка степени опасности отхода базируется на принципиальных положениях методологии гигиенического нормирования химических загрязнений среды обитания человека (почва, вода, воздух и др.), а также включает в себя методы, допущенные для целей государственного санитарно-эпидемиологического контроля. Экспериментальный метод позволяет определить класс опасности отхода как единого целого с учетом комбинированного, комплексного действия его компонентов и продуктов их трансформации на здоровье человека и среду его обитания. В зависимости от степени токсичности отхода, объема его образования и целей обращения с отходом предусматривается поэтапная экспериментальная оценка опасности отхода по сокращенной или расширенной схеме. ***Обязательным этапом оценки опасности отхода являются исследования по идентификации его химического состава.***

19.2.3. СОКРАЩЕННАЯ СХЕМА ОЦЕНКИ ОПАСНОСТИ ОТХОДА

Сокращенная схема оценки опасности отхода включает в себя:

– предварительную оценку водно-миграционной опасности;

– предварительную оценку воздушно-миграционной опасности (для отходов, содержащих летучие компоненты);

– оценку влияния отхода на биологическую активность почвы экспресс-методами (численность азотобактера, окислительно-восстановительный потенциал почвы, активность азотофиксации);

– оценку токсичности отхода методами биотестирования на гидробионтах и в фитотесте;

– оценку острой токсичности экстракта отхода при пероральном введении мышам;

– оценку подострой токсичности экстракта отхода при пероральном введении крысам в месячном опыте.

Сокращенная схема является обязательной при всех экспериментальных исследованиях. Результаты, полученные по сокращенной схеме, позволяют в относительно короткий срок оценить токсичность отхода, выявить лимитирующие пути его воздействия на человека и среду его обитания, определить направление дальнейших исследований**.**

Идентификация компонентов отхода проводится с учетом технологии их образования. Стандартными методами количественного химического анализа (КХА), наряду с валовым содержанием ингредиентов, определяются водорастворимые, а также подвижные формы, извлекаемые ацетат-аммонийным буфером (pH = 4,8).

Ориентировочный водно-миграционный показатель. Водно-миграционный показатель вредности характеризует процессы миграции химического вещества в поверхностные и подземные (грунтовые) воды. Под пороговой концентрацией химического вещества по водно-миграционному показателю вредности понимается то максимальное количество его в почве, при котором поступление химического вещества в грунтовые воды и водоисточники с поверхностным стоком не создает концентраций, превышающих ПДК в воде водоемов.

Для предварительной оценки водно-миграционной опасности отхода используется ориентировочный водно-миграционный показатель (ОВМП), который характеризует возможное отрицательное влияние отхода на условия жизни и здоровье человека в результате миграции отхода в грунтовые и поверхностные воды. ОВМП определяется по результатам КХА ацетатно-аммонийного буферного ($ОВМП_б$) и водного ($ОВМП_в$) экстрактов, отражающих содержание в отходе подвижных и водорастворимых форм элементов. Расчет величины ОВМП проводится по формулам:

$$ОВМП_б = \sum_{i=1}^{n} \frac{C_i^б}{ПДК_i^в}, \qquad (19.10)$$

$$\text{ОВМП}_{\text{в}} = \sum_{i=1}^{n} \frac{C_i^{\text{в}}}{\text{ПДК}_i^{\text{в}}}, \qquad (19.11)$$

где $C_i^{б}$ и $C_i^{в}$ – фактические концентрации i-го компонента соответственно в буферном и водном экстрактах, мг/л; $\text{ПДК}_i^{\text{в}}$ – предельно допустимая концентрация содержания данного компонента в воде водоемов, мг/л. Таким образом, данный показатель отражает суммарное превышение концентраций компонентов отхода над нормативом ($\text{ПДК}_{\text{в}}$). Класс опасности отхода по величине ОВМП определяется с помощью табл. 19.10. При получении разных классов опасности одного и того же отхода по указанным показателям приоритет отдается результатам, полученным по $\text{ОВМП}_{\text{б}}$, который отражает не только его реальную, но и потенциальную опасность.

Оценка воздушно-миграционной опасности. Воздушно-миграционный показатель вредности характеризует процессы поступления химического вещества из почвы в атмосферный воздух с почвенной пылью и путем испарения и соиспарения с водными парами и другими испарителями. Под пороговой концентрацией по этому показателю вредности понимается то количество вещества в почве, при котором поступление соединения в атмосферный воздух не сопровождается превышением установленной среднесуточной (или максимально разовой) ПДК. Предварительная оценка воздушно-миграционной опасности отхода проводится расчетным методом при наличии в отходе летучих веществ. Если давление насыщенных паров при температуре 20ºС известно, то максимально возможную концентрацию вещества при этих условиях можно рассчитать по формуле:

$$C = \frac{MP \cdot 1000}{18{,}3} \text{ мг/мм}^3. \qquad (19.12)$$

Если давление насыщенных паров устанавливается при других температурах, то расчет проводится по формуле:

$$C = \frac{16 \cdot MP \cdot 1000}{T} \text{ мг/мм}^3, \qquad (19.13)$$

где C – максимально возможная концентрация вещества, мг/мм^3; M – молекулярная масса вещества; P – давление насыщенных паров при 20ºС, мм. рт. ст.; T – абсолютная температура в градусах Кельвина, при которой производилось определение давления насыщенных паров.

Класс опасности отхода по воздушно-миграционному показателю устанавливается с помощью табл. 19.10. Если расчетом установлено, что концентрация или давление насыщенных паров веществ, создающихся в приземном слое воздуха при температуре 50ºС больше, чем их $\text{ПДК}_{\text{мр}}$ в атмосферном воздухе, то необходимо проведение расширенных исследований.

Таблица 19.10

Эколого-гигиенические показатели и критерии отнесения отходов к классам опасности

№	Показатели опасности	Классы опасности			
		I	II	III	IV
		Чрезвычайно опасные	Высокоопасные	Умеренно опасные	Малоопасные
1	$ОВМП_б$	> 1000	1000–100	100–10	≤ 10
2	$ОВМП_в$	> 100	100–50	50–10	10–3
3	Водно-миграционный (превышение $ПДК_{вв}$ веществ, определяемых в фильтрате)	> 30	30–10	10–5	5–1
4	Воздушно-миграционный (превышение $ПДК_{м.р.}$)	> 30	30–10	10–5	5–1
5	Азотобактер (% подавления)	> 90	90–75	75–50	50–25
6	Процессы биологической активности почвы (% подавления)	> 75	75–50	50–25	25–5
7	Окислительно-восстановительный потенциал почвы (сдвиг ОВП, мВ)	> 250	250–200	200–150	150–100
8	Фитотоксичность, (ER_{50})	> 100	100–10	10–1	1–0,1
9	Разведение экстракта, действующее на гидробионтов	> 10000	10000–1000	1000–100	10–1
10	Разведение экстракта, вызывающее токсический эффект на уровне LD_{50}	> 1000	1000–100	100–10	< 10
11	Разведения, вызывающие статистически достоверные изменения в организме животных в подостром эксперименте	> 1000	1000–100	100–10	< 10
12	Разведения, вызывающие статистически достоверные изменения в организме животных в хроническом эксперименте	> 10000	10000–1000	1000–100	< 100
13	Иммунологические (% сенсибилизации животных)	> 61	60–41	40–21	< 20
14	Мутагенная активность (кратность превышения опыт/контроль)	> 15	15–11	10–4	3–2
15	Морфологические изменения, % к контролю	> 46	45–31	30–21	≤ 20

Оценка влияния отхода на биологическую активность почвы. Для оценки опасности отхода для почвенную микрофлору применяют экспресс-методы тестировании с культурой *Azotobacter chroococcum*, основными группами почвенных микроорганизмов (микроскопическими почвенными грибами, сапрофитными бактериями и актиномицетами, а также определение окислительно-восстановительного потенциала (ОВП). Критериями действия отхода является угнетение роста тест-культур и сдвиг ОВП более чем на 100 мВ. Ранжирование отхода по классам опасности по этим показателям проводят в соответствии с данными табл. 19.10. При получении разных классов опасности одного и того же отхода по микробиологическим показателям предпочтение отдается результатам, полученным по основным группам микроорганизмов (почвенные грибы, сапрофитные бактерии, актиномицеты).

Оценка токсичности отхода биотестированием на гидробионтах. Биотестирование проводят методами, допущенными для целей государственного санитарно-эпидемиологического контроля. В экспериментах на гидробионтах следует применять не менее двух тест-организмов разных систематических групп (дафний, инфузорий, водорослей и т.п.). Класс опасности отхода определяется по достоверному эффекту воздействия на гидробионтов водного экстракта отхода с учетом разведения, при котором этот эффект наблюдается. Критерии оценки опасности отхода по влиянию на гидробионтов представлены в табл. 19.10. Подробное описание методов биологического тестирования для токсикологической оценки почв и отходов можно найти в главе 8.

Оценка фитотоксического действия отхода. Оценка опасности отхода по фитотоксическому действию проводится экспресс-методом на проращивание семян. В качестве индикаторов токсичности используют семена сельскохозяйственных растений, например овса или ячменя. Фитотоксическое действие считается доказанным, если в эксперименте зафиксирован фитотоксический эффект – статистически значимое ($p \leq 0{,}05$) торможение роста корней проростков растений под влиянием водного экстракта отхода. Показателем фитотоксической опасности отхода является среднеэффективное разведение экстракта (ER_{50}), вызывающее торможение роста корней на 50%. Класс опасности отхода по фитотоксическому действию (ER_{50}) устанавливают в соответствии с критериями табл. 19.10.

Санитарно-токсикологическая оценка опасности отхода. Санитарно-токсикологический эксперимент включает в себя острый и подострый опыты. Острый и подострый токсикологический эксперименты проводятся с экстрактом отхода и его разведениями (1:10, 1:100 и т.д., в зависимости от концентрации токсических веществ в нативном экстракте) при их пероральном введении в организм экспериментальных животных. Задача острого опыта – установление величины LD_{50} экстракта отхода при однократном введении. Проведение острого опыта целесообразно, если концентрации нескольких компонентов отхода достигают значений, соответствующих 1/2 – 1/10 и более от их LD_{50}. За величину LD_{50} принимается разведение экстракта отхода, вызывающее 50%-ную гибель экспериментальных животных.

Задачей подострого эксперимента является изучение характера и степени воздействия экстракта отхода при повторном поступлении в организм экспериментальных животных. Исследуется характер токсико-динамических и кумулятивных свойств отхода. Влияние отхода на организм экспериментальных животных оценивается на основании статистически значимых изменений по показателям их функционального состояния.

Критерии опасности отхода по результатам острого и подострого экспериментов представлены в табл. 19.10.

19.2.4. РАСШИРЕННАЯ СХЕМА ОЦЕНКИ ОПАСНОСТИ ОТХОДА

В зависимости от результатов предварительной оценки по сокращенной схеме проводятся исследования опасности отходов по расширенной схеме, которая включает в себя постановку длительных модельных экспериментов:

– по оценке миграции ингредиентов отхода по профилю почвы;

– по оценке воздушно-миграционной опасности;

– по оценке влияния отхода на почвенный микробиоценоз и биологическую активность почвы;

– по оценке уровня транслокации ингредиентов отхода в сельскохозяйственные растения (вегетационные опыты);

– по оценке влияния компонентов отхода на теплокровный организм в хроническом санитарно-токсикологическом эксперименте.

Оценка опасности отхода по расширенной схеме обязательна:

– ***при предполагаемом использовании отхода в сельском хозяйстве;***

– ***при производстве товаров народного потребления;***

– ***во всех случаях, когда возможно контактное, ингаляционное, пероральное или комплексное действие компонентов отхода на здоровье человека***.

Изучение миграции ингредиентов отхода в атмосферный воздух проводятся в стационарных условиях в микроклиматических камерах, обеспечивающих возможность установления различных почвенно-климатических параметров (температура, влажность и пр.). Уровень воздушно-миграционной опасности определяется кратностью превышения $ПДК_{м.р.}$ компонентов отхода.

Ранжирование отходов по классам опасности осуществляется в соответствии с табл. 19.10.

Изучение миграции ингредиентов отхода по профилю почвы проводится в расширенном эксперименте в стационарных опытах с учетом конкретных почвенно-климатических условий, специфики отхода и предполагаемого способа его утилизации. Доза внесения отхода рассчитывается по наиболее токсичному компоненту с учетом его $ПДК_п$ и предполагаемой нагрузки на почву. Показателем вводно-миграционной опасности является глубина миграции компонентов отхода по профилю почвы и уровень содержания их в фильтрате. Эффект миграции определяется по кратности превышения $ПДК_в$ для определяемых элементов. Ранжирование отхода по классам опасности проводят в соответствии с табл. 19.10.

Изучение биологической активности почвы включает в себя оценку влияния отхода на интенсивность биохимических процессов почвы (дыхание, азотфиксацию, нитрификацию, денитрификацию и др.). Влияние отхода на почвенный микробиоценоз оценивается по изменению численности сапрофитных бактерий, почвенных грибов, актиномицетов и т.д. Критерием опасности отхода являются достоверные изменения показателей, указанные в табл. 19.10.

Вегетационные опыты по определению уровня транслокации ингредиентов отхода в сельскохозяйственные растения проводятся в лабораторных или натурных условиях. Об эффекте транслокации судят по накоплению компонентов отхода в растениях, выращенных на почве, содержащей исследуемые отходы.

Критерием опасности по данному показателю являются предельно допустимые концентрации компонентов отхода для пищевых продуктов растительного происхождения и кормов, превышение которых не допускается.

Хронический санитарно-токсикологический эксперимент проводится с целью установления степени проявления возможного токсического действия отхода при длительной интоксикации организма его экстрактом. Воздействие отхода на организм оценивается по статистически достоверным изменениям показателей функционального состояния организма (гематологическим, биохимическим, иммунологическим и др.).

Конечной целью хронического эксперимента является установление порогового разведения экстракта, а также разведения, обеспечивающего безопасность отхода в токсикологическом отношении. Класс опасности отхода по влиянию на теплокровный организм определяется в соответствии с табл. 19.10.

При оценке биологического действия отхода следует иметь в виду вероятность проявления отдаленных последствий влияния их на теплокровный организм. В этих случаях рекомендуется проведение специальных исследований по изучению тератогенного, эмбриотоксического, гонадотоксического, мутагенного, канцерогенного и аллергенного эффектов в соответствии с методическими указаниями, утвержденными Минздравом России по каждому виду действия.

Объем исследований определяется степенью изученности отдельных компонентов отхода в отношении их способности вызывать те или иные виды отдаленных эффектов. Класс опасности отхода устанавливается по результатам комплекса проведенных исследований с учетом лимитирующего показателя вредности, за который принимается показатель, выявивший наибольшую степень опасности отхода. При этом приоритет отдается токсикологическим показателям.

19.3. ТРЕБОВАНИЯ К ДОКУМЕНТАЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЕМОЙ ДЛЯ УТВЕРЖДЕНИЯ КЛАССА ОПАСНОСТИ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА И ПОТРЕБЛЕНИЯ

Данные по обоснованию класса опасности (токсичности) отхода представляются на утверждение в учреждения, осуществляющие государственный санитарно-эпидемиологический надзор на соответствующей территории Российской Федерации.

Для утверждения класса опасности заявитель отхода представляет сведения о производителе и (или) собственнике отхода, содержащие все реквизиты и материалы, обосновывающие отнесение токсичного отхода к классу опасности, с соблюдением следующих требований:

– наименование отхода должно соответствовать технологическому регламенту;

– сведения о составе отхода (по компонентам) должны быть представлены с указанием методик его определения и их погрешностей, заверенные руководителем организации, проводившей исследования с указанием документа ее аккредитации;

– данные по санитарно-гигиеническим и химическим показателям представляют по форме, приведенной в табл. 19.8 и 19.10;

– при расчетном методе определения класса опасности отхода должно быть представлено заключение и отчет о результатах проведенных расчетов, заверенные руководителем организации, проводившей данную работу;

– при экспериментальном методе определения класса опасности отхода должно быть представлено заключение и отчет о результатах проведенных исследований, заверенные руководителем организации, проводившей данную работу.

Приложение 3

Условные обозначения

LD_{50} (мг/кг)	–	средняя смертельная доза вещества, вызывающая гибель 50% всех взятых в опыт лабораторных животных при однократном пероральном введении в унифицированных условиях.
CL_{50} (мг/м^3)	–	средняя смертельная концентрация вещества, вызывающая гибель 50% всех взятых в опыт лабораторных животных при однократном ингаляционном введении в унифицированных условиях.
$ПДК_п$ (мг/кг)	–	предельно допустимая концентрация химического вещества в почве.
$ПДК_в$ (мг/л)	–	предельно допустимая концентрация химического вещества в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования.
$ПДК_{в.р.}$ (мг/л)	–	предельно допустимая концентрация химического вещества в воде водоема, используемого для рыбохозяйственных целей.
ОДУ	–	ориентировочно допустимый уровень содержания вещества в воде водоемов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового назначения.
$ПДК_{р.з.}$ (мг/м^3)	–	предельно допустимая концентрация химического вещества в воздухе рабочей зоны.
$ПДК_{с.с.}$ (мг/м^3)	–	предельно допустимая среднесуточная концентрация химического вещества в воздухе населенных мест.
$ПДК_{м.р.}$ (мг/м^3)	–	предельно допустимая максимальная разовая концентрация в воздухе населенных мест.

$ПДК_{п.п.}$ (мг/кг)	–	предельно допустимая концентрация химического вещества в продуктах питания.
ОБУВ (мг/м^3)	–	ориентировочный безопасный уровень воздействия вещества в атмосферном воздухе.
ОДК (мг/кг)	–	ориентировочно допустимая концентрация вещества в почве.
$C_{нас}$ (мг/м^3)	–	насыщающая концентрация вещества в воздухе при 20ºС и нормальном давлении.
K_{ow}	–	коэффициент распределения в системе октанол/вода при 20ºС.
$K_{ВИО}$	–	коэффициент возможности ингаляционного отравления.
($C_{нас}$) к CL_{50}	–	отношение концентрации насыщения вещества в воздухе для лабораторных животных при ингаляционном поступлении в унифицированных условиях (20ºС, экспозиция: 2 часа – мыши; 4 часа – крысы).
CL_{50}^{w} (мг/л/96 ч)	–	средняя смертельная концентрация вещества в воде, вызывающая гибель 50% всех взятых в опыт гидробионтов (дафний, рыб) через 96 часов.
ОВМП	–	ориентировочный водно-миграционный показатель.
ER_{50}	–	средне-эффективное разведение экстракта отхода, вызывающее торможение роста корней проростков семян на 50%.
ОВП	–	окислительно-восстановительный потенциал почвы.
КХА	–	количественный химический анализ.

Глава 20

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВ

Внимание, которое должно уделяться охране и защите почв от химического загрязнения, определяется их исключительной биосферной ролью. Опасность загрязнения почв определяется уровнем ее возможного отрицательного влияния на контактирующие среды (вода, воздух), пищевые продукты и прямо или опосредованно на человека, а также на биологическую активность почвы и процессы самоочищения.

Санитарно-эпидемиологические требования предъявляются к жилым территориям, рекреационным и курортным зонам, зонам санитарной охраны водоемов и прибрежных водоемов, территориям сельскохозяйственного назначения и другим, где возможно влияние загрязненных почв на здоровье человека и условия проживания. В почвах городских и сельских поселений и сельскохозяйственных угодий содержание потенциально опасных для человека химических и биологических веществ, биологических и микробиологических организмов в почвах на разной глубине, а также уровень радиационного фона не должны превышать предельно допустимых концентраций (уровней), установленных санитарными правилами и гигиеническими нормативами. Гигиенические требования к качеству почв устанавливаются с учетом их специфики, почвенно-климатических особенностей населенных мест, фонового содержания химических соединений и элементов. В качестве фоновых значений концентраций химических веществ следует использовать региональные показатели почв.

20.1. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ[51]

Результаты обследования почв учитывают при определении и прогнозе степени их опасности для здоровья и условий проживания населения в населенных пунктах, разработке мероприятий по их рекультивации, схем районной планировки, технических решений по реабилитации и охране водосборных территорий и т.д.

[51] МУ 2.1.7.730-99 Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест.

Таблица 20.1

Методологические принципы отбора проб почвы дли оценки санитарного состояния почв (Гигиеническая оценка…, 1999)

Характер анализа	Частота отбора проб	Размещение пробных площадок	Необходимое количество пробных площадок	Размер пробных площадок	Количество объединенных проб с одной площадки	Глубина отбора проб, см	Масса объединенной пробы
Санитарно-химический	Не менее 1 раза в год	На разных расстояниях от источника загрязнения	Не менее одной в каждом месте контроля	25 м^2	Одна из не менее, чем 5 точек по 200 г каждая	Послойно 0–5; 5–20	1 кг
в т. ч. на тяжелые металлы	Не менее 1 раза в 3 года						
Бактериологический	Не менее 1 раза в год	В местах возможного нахождения людей, животных, загрязнения органическими отходами	На площади 100 м^2 одна площадка	25 м^2	10 из 3 точечных по 200–250 г каждая	Послойно 0–5; 5–20	600–750 г
Гельминтологический	2–3 раза в год	То же, что и для бактериологии	На площади 100 м^2 одна площадка	25 м^2	4–10 каждая из 10 точечных по 20 г каждая	Послойно 0–5 5–10 м	200 г
Энтомологический	Не менее 2 раз в год	Мусоросборники разных типов, свалки, иловые площадки	Вокруг одного объекта 10 площадок	0.2 × 2м	1 из 10 площадок	10	1 кг
Оценка биологической активности почв (динамика самоочищения)	В течение 3 мес. (вегетационный период) 1-й мес. – еженедельно, затем 1 раз в месяц	Не менее 1 экспериментальной и 1 контрольной площадки		25 м^2	1 объединенная из не менее чем 5 точечных по 200 г	0–25	1 кг

20.1.1. ОТБОР ПРОБ

Контроль за загрязнением почв населенных пунктов проводится с учетом функциональных зон города. Места отбора проб предварительно отмечаются на картосхемах, отражающих структуру городского ландшафта. Пробная площадка должна располагаться на типичном для изучаемой территории месте. При неоднородности рельефа площадки выбирают по элементам рельефа. На территорию, подлежащую контролю, составляют описание с указанием адреса, точки отбора, общего рельефа микрорайона, расположения мест отбора и источников загрязнения, уровня грунтовых вод, типа почвы, других данных, необходимых для правильной оценки и трактовки результатов анализов образцов.

При контроле за загрязнением почв промышленными источниками площадки для отбора проб располагают на площади 3 кратной величины санитарно-защитной зоны вдоль векторов розы ветров на расстоянии 100, 200, 300, 500, 1000, 2000, 5000 и более от источников загрязнения (ГОСТ 17.4.4.02-84).

При изучении загрязнения почв транспортными магистралями пробные площадки закладываются на придорожных полосах с учетом рельефа местности, растительного покрова, метео- и гидрологических условий. Пробы почвы отбирают с узких полос длиной 200–500 м на расстоянии 0–10, 10–50, 50–100 м от полотна дороги. Одна смешанная проба составляется из 20–25 точечных, отобранных с глубины 0–10 см.

При оценке почв сельскохозяйственных территорий пробы почвы отбирают 2 раза в год (весна, осень) с глубины 0–25 см. На каждые 0–15 га закладывается не менее одной площадки размером 100–200 м^2 в зависимости от рельефа местности и условий землеиспользования.

На стадии выполнения строительных работ исследования почв проводятся в полном объеме по химическим показателям. Отбор проб почв проводится послойно на глубинах: 0–0,2; 0,2–1,0; 1,0–2,0 метров от поверхности земли и далее не реже чем через один метр, в зависимости от глубины заложения фундамента здания или прокладки инженерных коммуникаций, гидрогеологических условий, интенсивности загрязнения и т.д. После завершения строительства исследования проводятся на территориях жилой застройки наиболее значимых по комплексу химических (включая 3.4-бензапирен, нефтепродукты), санитарно-микробиологических и санитарно-паразитологических исследований. Отбор проб почв проводится с поверхности.

Геохимическое картирование территорий крупных городов с многочисленными источниками загрязнения проводится по сети апробирования. Для выявления очагов загрязнения рекомендуемая плотность отбора составляет 1–5 проб/км^2 с расстоянием между точками отбора 400–1000 м. Для дальнейшего выявления территории с максимальной степенью загрязнения сеть апробирования сгущается до 20–25 проб/км^2 и расстоянием между точками отбора около 200 м. Пробы рекомендуется отбирать с глубины 0–5 см. Размер сети апробирования может меняться в зависимости от масштаба картирования, характера использования территории, требований к уровню их загрязнения.

Точечные пробы отбирают в соответствии с ГОСТом 17.4.4.02-84 и методологическими принципами, изложенными в табл. 20.1.

20.1.2. ПОКАЗАТЕЛИ УРОВНЯ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ

Основным критерием гигиенической оценки загрязнения почвы химическими веществами является предельно допустимая концентрация (ПДК) или ориентировочно допустимая концентрация (ОДК) химических веществ в почве. Оценка степени опасности загрязнения почвы химическими веществами проводится по каждому веществу в отдельности, а также по их суммарному воздействию.

Опасность загрязнения почвы тем выше, чем больше фактическое содержание компонентов превышает ПДК

$$K_0 = C_{факт.}/ПДК, \qquad (20.1)$$

где K_0 – коэффициент превышения; $C_{факт.}$ – фактическая концентрация химического вещества в почве, мг/кг; ПДК – соответствующий этому веществу норматив, мг/кг.

Как правило, опасность загрязнения возрастает с увеличением класса опасности контролируемого вещества, его персистентности, растворимости в воде, подвижности в почве и глубиной загрязненного слоя. Снижение буферной способности почвы, зависящей от ее механического состава, содержания органического вещества и кислотности, также ведет к увеличению опасности загрязнения почвы. Поэтому снижение содержания гумуса и pH почвенного раствора в сочетании с легким механическим составом являются факторами, способствующими химическому загрязнению почв.

Гигиенические требования к качеству почв территорий *населенных мест* устанавливаются в первую очередь для наиболее значимых территорий (зон повышенного риска): детских и образовательных учреждений, спортивных, игровых, детских площадок жилой застройки, площадок отдыха, зон рекреации, зон санитарной охраны водоемов, прибрежных зон, санитарно-защитных зон. В почвах на территориях жилой застройки не допускается:

– превышение предельно допустимых концентраций (ПДК) или ориентировочно допустимых концентраций (ОДК) химических загрязнений;

– наличие возбудителей каких-либо кишечных инфекций, патогенных бактерий, энтеровирусов. Индекс санитарно-показательных организмов должен быть не выше 10 клеток/г почвы;

– наличие возбудителей кишечных паразитарных заболеваний (геогельминтозы, лямблиоз, амебиаз и др.), яиц геогельминтов, цист (ооцисты), кишечных, патогенных, простейших;

– наличие преимагинальных форм синантропных мух.

– снижение санитарного числа ниже 0.98 (относительные единицы).

Почвы, отвечающие предъявленным требованиям, следует относить к категории «чистая».

Требования к химическому загрязнению почв населенных мест определяются в зависимости от приоритетности компонентов загрязнения в соответствии со списком ПДК (ОДК) химических веществ в почве и их класса опасности, согласно государственному стандарту (табл. 20.2).

Таблица 20.2

Классы опасности химических загрязняющих веществ

Классы опасности	Химическое загрязняющее вещество
1	Мышьяк, кадмий, ртуть, свинец, цинк, фтор, 3,4-бенз(а)пирен
2	Бор, кобальт, никель, молибден, медь, сурьма, хром
3	Барий, ванадий, вольфрам, марганец, стронций, ацетофенон

По степени опасности в санитарно-эпидемиологическом отношении почвы населенных мест могут быть разделены по уровню загрязнения на следующие категории: чистая, допустимая, умеренно опасная, опасная и чрезвычайно опасная.

Требования к почвам по химическим и эпидемиологическим показателям представлены в табл. 20.3.

Почвы *сельскохозяйственного назначения* по степени загрязнения химическими веществами разделены на следующие категории: допустимые, умеренно опасные, опасные и чрезвычайно опасные:

– *допустимая* категория почв – содержание химических веществ в почве превышает фоновое, но не выше ПДК;

– *умеренно опасная* категория почв – содержание химических веществ в почве превышает их ПДК при лимитирующем общесанитарном, миграционном водном и миграционном воздушном показателях вредности, но ниже допустимого уровня по транслокационному показателю вредности;

– *опасная* категория почв – содержание химических веществ в почве превышает их ПДК при лимитирующем транслокационном показателе вредности;

– *чрезвычайно опасная* категория почв – содержание химических веществ превышает ПДК по всем показателям вредности.

Рекомендации по практическому использованию сельскохозяйственных почв загрязненных территорий с учетом существующей разницы допустимых уровней содержания химических веществ по различным показателям вредности и основных положений дифференциальной оценки степени опасности загрязненных почв даны в табл. 20.4.

При загрязнении почвы одним веществом неорганической природы оценка степени загрязнения проводится в соответствии с табл. 20.5 с учетом класса опасности данного вещества, его ПДК и максимального значения допустимого содержания вещества (K_{max}) по одному из четырех показателей вредности (табл. 20.6) K_1 – транслокационный, K_2 – миграционный водный, K_3 – миграционный воздушный и K_4 – общесанитарный.

Таблица 20.3

Оценка степени химического загрязнения почвы

Категории загрязнения	Санитарное число Хлебникова	Суммарный показатель загрязнения (Z_c)	Содержание в почве (мг/кг)					
			I класс опасности		II класс опасности		III класс опасности	
			Органические соединения	Неоргани-ческие соедния	Органические соединения	Неоргани-ческие соединения	Органические соединения	Неорганические соединения
Чистая *	0.98 и более	–	От фона до ПДК	От фона до ПДК	От фона до ПДК	От фона до ПДК	От фона до ПДК	От фона до ПДК
Допустимая	0.98 и более	< 16	От 1 до 2 ПДК	От 2 фоновых значений до ПДК	От 1 до 2 ПДК	От 2 фоновых значений до ПДК	От 1 до 2 ПДК	От 2 фоновых значений до ПДК
Умеренно опасная	0.85–0.98	16–32					От 2 до 5 ПДК	От ПДК до K_{max}
Опасная	0.7– 0.85	32–128	От 2 до 5 ПДК	От ПДК до K_{max}	От 2 до 5 ПДК	От ПДК до K_{max}	> 5 ПДК	> K_{max}
Чрезвычайно опасная	Менее 0.7	>128	> 5 ПДК	> K_{max}	>5 ПДК	> K_{max}		

* Категория загрязнения относится к объектам повышенного риска.

Z_c – расчет проводится в соответствии с методическими указаниями по гигиенической оценке качества почвы населенных мест.

K_{max} – максимальное значение допустимого уровня содержания элемента по одному из четырех показателей вредности.

Таблица 20.4

Гигиеническая оценка почв сельскохозяйственного назначения и рекомендации по их использованию

Категория загрязненности почв	Характеристика загрязненности почв	Возможное использование территории	Рекомендации по оздоровлению почв
1. Допустимая	Содержание химических веществ в почве превышает фоновое, но не выше ПДК	Использование под любые культуры	Снижение уровня воздействия источников загрязнения почвы. Осуществление мероприятий по снижению доступности токсикантов для растений (известкование, внесение органических удобрений и т.п.)
2. Умеренно опасная	Содержание химических веществ в почве превышает их ПДК при лимитирующем общесанитарном, миграционном водном и миграционном воздушном показателях вредности, но ниже допустимого уровня по транслокационному показателю	Использование под любые культуры при условии контроля качества сельскохозяйственных растений	Мероприятия, аналогичные категории при наличии веществ с лимитирующим миграционным водным или миграционным воздушным показателями. Проводится контроль за содержанием этих веществ в зоне дыхания с/х рабочих и в воде местных водоисточников
3. Высокоопасная	Содержание химических веществ в почве превышает их ПДК при лимитирующем транслокационном показателе вредности	Использование под технические культуры. Использование под с/х культуры ограничено с учетом растений-концентраторов	1. Кроме мероприятий, указанных для категории 1, обязательный контроль за содержанием токсикантов в растениях – продуктах питания и кормах. 2. При необходимости выращивания растений – продуктов питания – рекомендуется их перемешивание с продуктами, выращенными на чистой почве. 3. Ограничение использования зеленой массы на корм скоту с учетом растений-концентраторов
4. Чрезвычайно опасная	Содержание химических веществ превышает ПДК в почве по всем показателям вредности	Использование под технические культуры или исключение из сельскохозяйственного использования. Лесозащитные полосы	Мероприятия по снижению уровня загрязнения и связыванию токсикантов в почве. Контроль за содержанием токсикантов в зоне дыхания с/х рабочих и в воде местных водоисточников

Таблица 20.5

Критерии и категории оценки степени загрязнения почвы неорганическими веществами (Гигиеническая оценка…, 1999)

Содержание в почве (мг/кг)	Класс опасности вещества		
	1-й класс	2-й класс	3-й класс
$> K_{max}$	Очень сильная	Очень сильная	Сильная
От ПДК до K_{max}	Очень сильная	Сильная	Средняя
От двух фоновых значений до ПДК	Слабая	Слабая	Слабая

Таблица 20.6

Предельно допустимые концентрации (ПДК) неорганических химических веществ в почве и допустимые уровни их содержания по показателям вредности (Гигиеническая оценка… 1999)

Наименование вещества	Форма содержания	ПДК в-ва мг/кг почвы с учетом фона	Уровни показателей вредности (K_1–K_4) и максимальный из них – (K_{max}) в мг/кг				Класс опасности
			Транслокационный (K_1)	Миграционный		Общесанитарный (K_4)	
				Водный (K_2)	Воздушный (K_3)		
Медь	Подвижные формы, извлекаемые из почвы ацетатно-аммонийным буфером с pH 4.8	3	3.5	72	–	3	2
Хром	-"-	6	6	6	6	6	2
Никель	-"-	4	6.7	14	–	4	2
Цинк	-"-	23	23	200	–	37	1
Марганец, чернозем	-"-	140	320	1860	–	140	3
Марганец, дерновоподзолистая почва с *p*H 4	-"-	60	220	1000	–	60	3
Марганец, дерновоподзолистая почва с *p*H 1.4–5.6	-"-	80	220	1000	–	80	3
Марганец, дерновоподзолистая почва с *p*H > 6	-"-	100	–	1600	–	100	3
Марганец, черноземы	Извлекаемый 0.1 н H_2SO_4	700	1600	9300	–	700	3
Марганец, дерновоподзолистая почва с *p*H4	-"-	300	1100	5000	–	300	3
*p*H 5,1–6	-"-	400	1100	5000	–	400	3
*p*H > 6	-"-	500	1100	8000	–	500	3
Кобальт	Аммонийно-натриевый буфер pH 3.5 для сероземов и 4.7 для дерново-подзолистой почвы	5	25	>1000	–	5	2
Фтор	Водорастворимый	10	10	10	–	25	1

Сурьма	Валовая	4,5	4,5	4,5	–	50	2
Марганец	-"-	1500	3500	15000	–	1500	3
Ванадий	-"-	150	170	350	–	150	3
Марганец + ванадий	-"-	1000 + 100	1500 + 150	2000 + 200	–	1000 + 100	3
Свинец	-"-	32	35	260	–	32	1
Мышьяк	-"-	2	2	15	–	10	1
Ртуть	-"-	2,1	2,1	33,3	2,5	5	1
Свинец + ртуть	-"-	20+ 1	20+ 1	30 + 2	–	30 + 2	1
Хлористый калий (KCl)		560	1000	560	1000	5000	3
Нитраты	-"-	130	180	130	–	225	2
Сернистые соединения (S): элементарная сера	-"-	160	180	380		160	3
сероводород (H_2S)	-"-	0.4	160	140	0,4	160	3
серная кислота	-"-	160	180	380	–	160	1
Отходы флотации угля (ОФУ)[1]	-"-	3000	9000	3000	6000	3000	2
Комплексные гранулированные удобрения (КГУ)[2] NPK (64:0:15)	-"-	120	800	120	800	800	3
Жидкие комплексные удобрения (ЖКУ)[3] NPK (10:4:0)	-"-	80	>800	80	> 8000	800	3
Бенз(а)пирен	-"-	0,02	0,2	0,5	–	0,02	1

Примечания. ПДК должны корректироваться в соответствии с вновь разрабатываемыми документами.

[1] ПДК ОФУ контролируются по содержанию бенз(а)пирена в почве, которое не должно превышать ПДК бенз(а)пирена.

[2] ПДК КГУ состава NPK (64:0:15) контролируются по содержанию нитратов в почве, которое не должно превышать 76.8 мг/кг абс. сухой почвы.

[3] ПДК ЖКУ состава NPK (10:4:0) ТУ 6–08–290–74 с добавками марганца не более 0.6% от общей массы контролируются по содержанию подвижных фосфатов и почве, которое не должно превышать 27.2 мг/кг абс. сухой почвы.

Пример. Почва загрязнена медью в концентрации $C_{факт.}$ = 20 мг/кг. ПДК меди равна 3 мг/кг, максимальное значение допустимого уровня содержания по водно-миграционному показателю вредности $K_2 = K_{max}$ = 72 мг/кг, класс опасности – 2. Следовательно, ПДК < $C_{факт.} < K_{max}$, что по табл. 20.5 соответствует категории «сильного» загрязнения почвы.

При загрязнении почвы одним веществом органического происхождения его опасность определяется исходя из его ПДК и класса опасности (табл. 20.7).

Таблица 20.7

Критерии и категории оценки степени загрязнения почвы органическими веществами (Гигиеническая оценка… 1999)

Содержание в почве (ед, ПДК)	Класс опасности вещества		
	1-й класс	2-й класс	3-й класс
> 5 ПДК	Очень сильная	Очень сильная	Сильная
От 2 до 5 ПДК	Очень сильная	Сильная	Средняя
От 1 до 2 ПДК	Слабая	Слабая	Слабая

Для комплексной оценки уровня химического загрязнения почв как индикатора неблагоприятного воздействия на здоровье населения с учетом региональных геохимических показателей применяется суммарный показатель загрязнения:

$$Z_C = \sum_{i=1}^{n} K_{C_i} - (n-1), \qquad (20.2)$$

где n – число определяемых химических загрязнителей; K_{C_i} – коэффициент концентрации i-го химического вещества:

$$K_C = \frac{C_{факт.}}{\overline{C}_{фон}}, \qquad (20.3)$$

где $C_{факт.}$ – фактическая концентрация определяемого вещества в почве, мг/кг; $C_{фон}$ – его региональная фоновая концентрация, мг/кг.

Таблица 20.8

Ориентировочная оценочная шкала опасности загрязнения почв по суммарному показателю загрязнения (Z_C) (Гигиеническая оценка… 1999)

Категории загрязнения почв	Величина Z_C	Изменения показателей здоровья населения в очагах загрязнения
Допустимая	Менее 16	Наиболее низкий уровень заболеваемости детей и минимальная частота встречаемости функциональных отклонении
Умеренно опасная	16–32	Увеличение общей заболеваемости
Опасная	32–128	Увеличение общей заболеваемости, числа часто болеющих детей, детей с хроническими заболеваниями, нарушениями функционального состояния сердечно-сосудистой системы
Чрезвычайно опасная	Более 128	Увеличение заболеваемости детского населения, нарушение репродуктивной функции женщин (увеличение токсикозов беременности, числа преждевременных родов, мертворождаемости, гипотрофии новорожденных)

Оценка степени опасности загрязнения почв комплексом загрязнителей по показателю Z_C, отражающему дифференциацию загрязнения воздушного бассейна городов, как металлами, так и другими наиболее распространенными ингредиентами (пыль, окись углерода, окислы азота, сернистый ангидрид), проводится по оценочной шкале (табл. 20.8). Для принятия административных решений о характере использования земель в разной степени загрязненных химическими веществами рекомендуется руководствоваться «Порядком определения ущерба от загрязнения земель химическими веществами» (1993) с учетом характера землепользования. В случае принудительного изъятия земельного участка из земель сельскохозяйственного назначения, в случае их использования с нарушениями установленных земельным законодательством требований рационального использования земли, повлекшим за собой существенное снижение плодородия или значительное ухудшение экологической обстановки, в качестве критериев используются следующие показатели:

- загрязнение почвы химическими веществами, при котором суммарный показатель содержания в почве загрязняющих веществ Z_C равен или превышает значение 30;
- размещение отходов производства и потребления 1–4-го классов опасности в пределах земельного участка на суммарной площади 0,5 гектара и выше.

20.2. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПОЧВ

Рекомендации по использованию почв обусловливаются степенью их химического, бактериологического, паразитологического и энтомологического загрязнения (табл. 20.9). Мероприятия по рекультивации территории, загрязненной возбудителями особо опасных инфекций, разрабатываются в каждом конкретном случае в соответствии с нормативными документами по согласованию с органами и учреждениями, осуществляющими государственный санитарно-эпидемиологический надзор.

Таблица 20.9

Рекомендации по использованию почв в зависимости от степени их загрязнения

Категории загрязнения почв	Рекомендации по использованию почв
Чистая	Использование без ограничений
Допустимая	Использование без ограничений, исключая объекты повышенного риска
Умеренно опасная	Использование в ходе строительных работ под отсыпки котлованов и выемок, на участках озеленения с подсыпкой слоя чистого грунта не менее 0,2 м
Опасная	Ограниченное использование под отсыпки выемок и котлованов с перекрытием слоем чистого грунта не менее 0,5 м. При наличии эпидемиологической опасности – использование после проведения дезинфекции (дезинвазии) по предписанию органов госсанэпидслужбы с последующим лабораторным контролем
Чрезвычайно опасная	Вывоз и утилизация на специализированных полигонах. При наличии эпидемиологической опасности – использование после проведения дезинфекции (дезинвазии) по предписанию органов госсанэпидслужбы с последующим лабораторным контролем

20.3. ОРГАНИЗАЦИЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ПОЧВ

Контроль качества почв проводится на всех стадиях проектирования и строительства. Полнота и объем исследований зависят от стадии проектирования и строительства. На стадии разработки предпроектной документации и выбора земельного участка допускается исследование почв с использованием сокращенного перечня показателей. На стадии выбора земельного участка и выполнения проектных работ, а также строительства и приемки объекта в эксплуатацию контроль осуществляется с использованием стандартного перечня показателей. Стандартный перечень химических показателей включает в себя определение содержания:

- тяжелых металлов: свинец, кадмий, цинк, медь, никель, мышьяк, ртуть;
- 3,4-бенз(а)пирена и нефтепродуктов;
- *p*H;
- суммарный показатель загрязнения.

Контроль с использованием расширенного перечня санитарно-эпидемиологических показателей проводится на объектах повышенного риска, на остальных – по стандартному перечню показателей. Стандартный перечень может быть расширен с учетом санитарно-эпидемиологической ситуации и хозяйственным освоением территории (табл. 20.10).

После ввода объекта в эксплуатацию заказчик обязан обеспечить проведение лабораторных исследований качества почвы объектов повышенного риска, что должно быть отражено в санитарно-эпидемиологическом заключении.

Мониторинг состояния почвы осуществляется в жилых зонах, включая территории повышенного риска, в зоне влияния автотранспорта, захороненных промышленных отходов (почва территорий, прилегающих к полигонам), в местах временного складирования промышленных и бытовых отходов, на территории сельскохозяйственных угодий, санитарно-защитных зон. Объем исследований и перечень изучаемых показателей при мониторинге определяется в каждом конкретном случае с учетом целей и задач по согласованию с органами и учреждениями, осуществляющими государственный санитарно-эпидемиологический надзор.

Мониторинг проводится с учетом результатов исследований на всех предыдущих стадиях проектирования, строительства, а также по окончании строительства объекта, при вводе его в эксплуатацию и на протяжении всего его эксплуатационного периода.

Таблица 20.10

Основные показатели оценки санитарного состояния почв территории населенных мест в зависимости от их функционального назначения

№	Наименование показателя	Объекты наблюдения (функциональные зоны, территории)						
		Жилая зона	Детские дошкольные и школьные учреждения, игровые площадки, территории дворов	Зоны санитарной охраны водоемов	Рекреационные зоны (скверы, парки, бульвары, пляжи, лесопарки)	Транспортные магистрали	Промышленная зона	Почвы с/ч (опытные поля, сады и огороды, приусадебные участки, тепличные хозяйства)
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Санитарное число (отношение белкового азота к общему органическому азоту)	±	±	±	–	–	–	–
2	Аммонийный азот, мг/кг	+	+	+	+	–	±	±
3	Нитратный азот, мг/кг	+	+	+	+	–	±	+
4	Хлориды, мг/кг	±	±	±	±		±	±
5	*p*H	±	±	±	±	±	±	±
6	Пестициды (остаточные количества), мг/кг	+	+	+	+	–	+	+
7	Тяжелые металлы, мг/кг	+	+	+	±	+	+	+
8	Нефть и нефтепродукты, мг/кг	+	±	+	±	+	+	+
9	Фенолы летучие, мг/кг	+	±	+	+	±	+	±
10	Сернистые соединения, мг/кг	+	±	+	+	+	+	±
11	Детергенты, мг/кг	+	±	+	+	–	+	±
12	Канцерогенные вещества, мг/кг	+	+	+	+	+	+	+
13	Мышьяк, мг/кг	+	+	+	+	+	+	+

Окончание табл. 20.10

1	2	3	4	5	6	7	8	9
14	Полихлорированные бифенилы, мкг/кг	+	+	+	±	±	±	±
15	Цианиды, мг/кг	+	+	+	+	+	+	+
16	Радиоактивные вещества, Ки/г	+	+	+	+	+	+	+
17	Макрохимические удобрения, г/кг	±	±	+	±	–	–	–
18	Микрохимические удобрения, мг/кг	±	±	+	±	–	–	–
19	Лактозо-положительные кишечные палочки (Колиформы), индекс	+	+	+	+	+	+	+
20	Энтерококки (фекальные стрептококки), индекс	+	+	+	+	+	+	+
21	Патогенные микроорганизмы (по эпидпоказаниям), индекс	+	+	+	+	+	+	+
22	Яйца и личинки гельминтов (жизнеспособных), экз./кг	+	+	+	+	+	+	+
23	Цисты кишечных патогенных простейших, экз./100 г	+	+	+	+	+	+	+
24	Личинки и куколки синантропных мух, экз./в почве площадью 20×20 см	+	+	+	+	±	±	±

Знак «+» означает обязательность определения показателя при определении санитарного состояния почв, знак «–» – показатель необязательный, знак «±» – показатель обязательный при наличии источника загрязнения.

Глава 21

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ОПАСНОСТИ И ТОКСИЧНОСТИ НАНОМАТЕРИАЛОВ

В настоящее время во всем мире быстрыми темпами развиваются нанотехнологии – технологии направленного получения и использования веществ и материалов в диапазоне размеров менее 100 нанометров. Нанотехнологии и наноматериалы по своей сути – это новая промышленная революция, происходящая в XXI веке. Уникальные свойства, которые приобретают вещества традиционного химического состава в форме наночастиц, открывают широкие перспективы в целенаправленном получении материалов с новыми свойствами, такими как уникальная механическая прочность, особые спектральные, электрические, магнитные, химические, биологические характеристики.

Наночастицы и наноматериалы обладают комплексом физических, химических свойств и биологическим действием, которые часто радикально отличаются от свойств этого же вещества в форме сплошных фаз или макроскопических дисперсий. В наноразмерном состоянии можно выделить следующие физико-химические особенности поведения веществ:

- увеличение химического потенциала веществ на межфазной границе высокой кривизны[52];
- большая удельная поверхность наноматериалов, что увеличивает их адсорбционную емкость, химическую реакционную способность и каталитические свойства и приводит к увеличению продукции свободных радикалов и активных форм кислорода и повреждению биологических структур;
- небольшие размеры и разнообразие форм наночастиц, обуславливающие связывание с нуклеиновыми кислотами, белками, встраивание в мембраны, проникновение в клеточные органеллы, приводящее к изменению функции биоструктур;
- высокая адсорбционная активность (в связи с высокоразвитой поверхностью наночастицы обладают свойствами высокоэффективных адсорбентов и способны поглощать на единицу своей массы во много раз больше адсорбируемых веществ, чем макроскопические дисперсии);
- высокая способность к аккумуляции.

Все перечисленное свидетельствует о том, что наноматериалы, обладающие иными физико-химическими свойствами и биологическим действием по сравнению с традиционными аналогами, следует отнести к новым видам материалов и продукции, характеристика потенциального риска которых для

[52] Большая кривизна поверхности наночастиц и изменение топологии связи атомов на поверхности приводит к изменению их химических потенциалов, вследствие этого существенно изменяется растворимость, реакционная и каталитическая способность наночастиц и их компонентов.

здоровья и жизни человека является обязательной. В ближайшей перспективе следует ожидать резкого увеличения объёмов производства во всём мире и, в частности, в России ряда приоритетных наноматериалов, в частности таких, как наночастицы оксидов кремния, титана, цинка, железа, церия, алюминия, металлические наночастицы железа, меди, кобальта, никеля, алюминия, серебра, золота, углеродные нанотрубки, фуллерены, наночастицы биополимеров и рекомбинантных вирусов. Это с неизбежностью приведёт к поступлению значительных количеств наноматериалов в окружающую среду, их накоплению в компонентах биоты и абиотических средах с последующей возможной передачей человеку. Таким образом, наноматериалы и наночастицы, являющиеся продуктом современных нанотехнологий, безусловно, обладают комплексом уникальных свойств для их промышленного применения. В то же время они создают риски возможных неблагоприятных воздействий наноматериалов на организм человека, сельскохозяйственных животных и растений, а также компоненты природных биоценозов.

В настоящее время для подавляющего числа наноматериалов токсиколого-гигиеническая характеристика либо вообще отсутствует, либо представлена ограниченным числом тестов, методология и результаты которых часто взаимно несопоставимы. Между тем токсиколого-гигиеническая характеристика наноматериалов должна основываться на большом количестве исследований *in vitro* и *in vivo*, включая длительные эксперименты на животных. При этом количество промышленно производимых наноматериалов ежегодно существенно увеличивается, что указывает на практическую невозможность охарактеризовать в ближайшее время безопасность всех важнейших наноматериалов, поскольку для этого потребовалось бы привлечение неприемлемо огромных трудозатрат и материальных ресурсов.

В связи с этим в настоящее время разрабатываются шкалы приоритетов опасности, т.е. методические подходы (алгоритмы), позволяющие на основе уже имеющейся научной информации о свойствах наночастиц и их биологическом действии прогнозировать потенциальную степень их опасности для здоровья человека. На основании этого математического прогнозирования возможно проводить ранжирование наноматериалов по степени опасности: для объектов с низкой степенью опасности целесообразно проведение только отдельных, критически важных тестовых исследований, для наночастиц, характеризуемых средней степенью опасности, круг планируемых исследований должен быть существенно расширен и, наконец, для наноматериалов с высокой степенью потенциальной опасности токсиколого-гигиеническая характеристика должна осуществляться в полном объеме.

Другая важная проблема связана с необходимостью стандартизации тестирования наноматериалов. В настоящее время накоплен значительный экспериментальный материал относительно возможных вредных воздействий некоторых наноматериалов на живые организмы. Однако большинство исследований по изучению токсического действия наночастиц и наноматериалов выполнено на большом числе разнообразных, недостаточно стандартизированных методик и тест-систем, результаты которых часто несопоставимы. В связи с этим большое значение приобретает разработка системы стандартных тестов, позволяющих оценивать безопасность новых искусственных наноматериалов

териалов по их воздействию на показатели жизнедеятельности избранных биологических систем, в роли которых выступают патогенные, условно–патогенные и симбиотические микроорганизмы, культуры клеток высших животных, репрезентативные компоненты водных биоценозов (ракообразные, рыбы), организмы млекопитающих. Не существует универсальной тест-системы, способной обнаружить все возможные эффекты искусственных наноматериалов одинаково хорошо. Поэтому на практике все более широкое применение находят наборы тестов, включающих использование различных тест-организмов (бактерий, водорослей, простейших, ракообразных, рыб, растений и ряд других). В настоящее время наибольшее внимание, с точки зрения оценки интегральной токсичности почв и вод, привлекают биотесты с использованием культур микробных клеток и клеток высших животных, растений, ракообразных, физиологических и поведенческих реакций у высших животных. В качестве биотестов для оценки потенциального вредного воздействия искусственных наноматериалов на живые организмы, входящие в состав природных экосистем, предлагаются микроорганизмы: биолюминесцентный тест на фотобактериях, почвенные микроорганизмы: бактерии *Pseudomonas fluorescens* и *Bacillus subtilis*, дрожжи *Candida lipolytica*, семена высших растений.

Не менее остро стоит вопрос контроля и надзора за производством, оборотом, использованием и утилизацией наноматериалов, гигиеническим нормированием содержания искусственных наночастиц в объектах окружающей среды. Это, в свою очередь, требует наличия методов, позволяющих осуществлять выявление, идентификацию и количественное определение наночастиц искусственного происхождения в объектах окружающей среды (воздух, почва, вода, организмы животных и растений – компоненты биоты, сельскохозяйственное сырьё, пищевые продукты).

В числе современных методов наиболее разработанным и надёжным применительно к идентификации и выявлению искусственных наночастиц является электронная микроскопия. Она позволяет определять число, размер, форму частиц электронно-плотных веществ в диапазоне размеров 1–100 нм в составе сложных многокомпонентных, многофазных матриксов, какими являются объекты природного происхождения, такие как биологические ткани и отдельные клетки. С помощью дополнительных опций дифракции электронов в выбранной области и спектров характеристических потерь энергии электронов (СХПЭЭ) можно установить наличие у наночастиц кристаллической структуры и определённого химического состава, что является ценной дополнительной информацией для их идентификации.

Электронная микроскопия позволяет приближённо оценить число наночастиц определенного вида в единице объёма или массы анализируемой продукции. Однако точные количественные данные о содержании наночастиц, необходимые для выполнения задач их гигиенического нормирования, с помощью метода электронной микроскопии в общем случае получить не представляется возможным. После того как наночастицы определённого химического состава идентифицированы в образце, их количественный анализ производится с использованием метода атомно-эмиссионной спектрофотомерии и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. При этом анализиру-

ется содержание определённых химических элементов, являющихся маркёрными для наночастиц данного класса. По их содержанию в образце, с учётом сведений химического и фазового состава наноматериала, плотности частиц, их распределения по размерам можно определить собственно массу, число и суммарную площадь поверхности частиц в единице образца, что позволяет перейти собственно к задаче гигиенического нормирования наноматериалов.

В случае фуллеренов, являющихся наночастицами, сложенными по преимуществу атомами углерода, методы просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС) неинформативны. Методом выбора для определения этого класса наноматериалов в составе объектов окружающей среды является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) на C_{18} обращённой фазе, сочетаемая с определенным типом пробоподготовки (экстракцией ароматическими органическими растворителями).

Биологические системы, применение которых возможно для выявления вредных воздействий антропогенных веществ, к числу которых относятся искусственные наноматериалы, весьма разнообразны. В настоящее время их подразделяют на семь подгрупп в соответствии с основными биологическими дисциплинами:

- микроорганизмы,
- растения,
- простейшие организмы,
- клеточные и субклеточные элементы,
- различные гидробионты,
- организмы высших животных.

Биотестирование – один из приемов исследования в области токсикологии, используемый с целью установления степени токсического действия химических, физических и биологически неблагоприятных факторов среды, потенциально опасных для человека и компонентов экосистем. Биотестирование не отменяет системы аналитических и аппаратурных методов контроля за содержанием наноматериалов в природной среде, а дополняет ее качественно новыми биологическими показателями, так как с точки зрения оценки рисков сами по себе определения концентраций токсикантов имеют относительную ценность. Важно знать не только уровни экспонирования, но и вызываемые ими биологические эффекты. Кроме того, в отличие от физико-химического анализа, биологические методы позволяют оценить обобщенную, или интегральную, реакцию на действие неблагоприятных факторов, характеризуя направленность и скорость происходящих в организмах изменений.

21.1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАНОЧАСТИЦ И НАНОМАТЕРИАЛОВ

В настоящее время основное значение имеют следующие наночастицы и наноматериалы.

Фуллерены. Фуллерены определяются как вещества, состоящие из молекул (наночастиц), образованных строго определённым (фиксированным) ко-

личеством атомов углерода (не менее 20, обычно 60 или 70), организованных в симметричный замкнутый каркас. Молекулы типичного фуллерена (C_{60} пристин) состоят из 60 атомов углерода, каждый из которых ковалентно связан с 3 соседними атомами. Фуллерены подразделяются на немодифицированные (являющиеся одной из аллотропических форм углерода), модифицированные боковыми химическими группами и эндоэдральные, содержащие атом металла внутри объёма углеродного каркаса. При подтверждении подлинности и соответствия чистых препаратов фуллеренов следует использовать следующие показатели.

Немодифицированные фуллерены (пристины) по своим физическим свойствам представляют собой кристаллические порошки чёрного цвета, практически не растворимые в воде, полярных органических растворителях и алканах, растворимые в бензоле, его гомологах (толуол, ксилол) и галогенопроизводных (хлорбензол, бромбензол). В отличие от не модифицированных, химически модифицированные фуллерены могут быть умеренно или хорошо растворимыми в воде, водно-солевых растворах и полярных органических растворителях (спиртах, кетонах). Металлсодержащие фуллерены (эндоэдральные фуллерены, соединения включения) должны содержать анализируемый элемент (металл) в декларируемых изготовителем (заявителем) количествах, обычно 1 моль на моль фуллерена.

Углеродные нанотрубки. Углеродные нанотрубки представляют собой структуры неопределённой длины, образованные одним или несколькими слоями углерода, свёрнутыми в цилиндр. В зависимости от числа слоёв цилиндра различают одно- и многостенные нанотрубки, а в зависимости от типа симметрии, определяемого сдвигом графитового слоя при его замыкании в цилиндр, на прямые, спиральные и зигзагообразные. В отличие от фуллеренов, представляющих собой, в простейшем случае, чистую аллотропическую форму углерода, нанотрубки практически всегда содержат примеси металлов, используемых как катализаторы при их получении. Наряду с одно- и многостенными нанотрубками выделяют эндоэдральные нанотрубки (соединения включения), содержащие различные молекулы или атомы металлов, встроенные во внутреннюю полость нанотрубки. Помимо немодифицированных, существует большое число вариантов химически модифицированных нанотрубок с привитыми боковыми молекулярными группировками различной структуры.

Наночастицы металлов. При проведении тестирования наноматериалов, состоящих из наночастиц металлов, следует учитывать, что наночастицы многих металлов физически нестабильны (склонны к агломерации и агрегации) и (или) химически высоко реакционноспособны (быстро окисляются в кислородной атмосфере, реагируют с водой с большим выделением тепла, часто с воспламенением или взрывом). Поэтому при составлении плана исследования необходимо принимать меры по недопущению изменения физического состояния или химического состава этих наноматериалов путём проведения тестов в инертной атмосфере, в присутствии матриксов или стабилизирующих сред. Показателями, определяемыми при оценке соответствия наноматериалов, состоящих из наночастиц металлов, являются средний размер частиц и распределение частиц по размерам, форма частиц (сферическая, эллипсоидальная,

стержневидная, неправильная и др.), гетерогенность формы (присутствие в образце одного или нескольких типов формы частиц), аспектное отношение и его распределение, средняя циркулярность, удельная площадь поверхности в $см^2$ на единицу массы сухого порошка или на единицу объёма дисперсии в матриксе. Основной физико-химической характеристикой наноматериалов, состоящих из наночастиц металлов, при их исследовании в виде дисперсий в воде и органических растворителях, является спектр плазмонного резонанса в УФ- и видимой области. Частота плазмонного резонанса и, следовательно, максимум поглощения на УФ- и видимом спектре зависит как от природы металла, так и от размера частиц. Оценка соответствия наноматериала по данному показателю проводится путём сравнения спектров его поглощения в УФ-видимой области, регистрируемого спектрофотометром, со спектром стандартного образца наноматериала в том же растворителе.

Наночастицы оксидов и других бинарных металлов и неметаллов. Наноматериалы, образованные наночастицами бинарных соединений – оксидов (а также сульфидов, нитридов и карбидов) металлов и неметаллов, представляют собой порошки, нерастворимые в воде и органических растворителях, но растворимые в растворах некоторых сильных кислот и щелочей с образованием соответствующих солевых производных. Подтверждение подлинности и соответствия наноматериалов на основе бинарных соединений проводится на основании следующих характеристик. Методом (ПЭМ) производится учет размера частиц, распределение по размерам; определение формы частиц (сферическая, эллипсоидальная, стержневидная, игольчатая, неправильная и др.), гетерогенности формы (присутствие в образце одного или нескольких типов формы частиц); аспектного отношения и его распределения; средней циркулярности и её распределения. С помощью ПЭМ проверяется также наличие агломерации и агрегации оксидных наночастиц. Дополнительно может определяться температура плавления, а для наноматериалов, поставляемых в виде дисперсии в жидком матриксе, – температура их кипения при атмосферном давлении согласно стандартным методикам.

Методом ПЭМ с опцией дифракции электронов от выбранных групп наночастиц проверяется наличие у образца кристаллической структуры. При наличии дифракционной картины электронов от наночастиц образца он признаётся имеющим кристаллическую структуру, тип которой устанавливается путём наложения полученных электронограмм на электронограммы стандартного образца с известным типом кристаллической структуры. При отсутствии дифракционной картины образец рассматривается как аморфный. Наличие или отсутствие кристаллической структуры и её тип должны соответствовать стандартному образцу заявляемого наноматериала.

Предварительная оценка химической принадлежности оксидных, карбидных и нитридных наночастиц может осуществляться в методе ПЭМ с использованием опции СХПЭЭ. Метод применим для всех оксидных, сульфидных, карбидных и нитридных наночастиц, за исключением содержащих Zn, Ga, Ge, Y, Zr, Nb, Mo, Ru, Rh, Pd, Ag, Cd, In. Количественное определение содержания основного и примесных элементов в наноматериалах на основе частиц оксидов, карбидов и нитридов осуществляется методами ИСП–МС, а также атомно-абсорбционной спектрофотометрии и инверсионной вольтамперомет-

рии. В случае трудностей, связанных с переводом наноматериалов в растворимую форму, в ходе пробоподготовки может быть использована рентгенофлуоресцентная спектрометрия.

В случае поставки наноматериала в виде дисперсии в жидком матриксе определяют характеристики этого матрикса, включая состав и чистоту органического растворителя, наличие примесей, в том числе токсичных, молекулярную массу, тип, концентрацию применяемых ПАВ и других стабилизирующих добавок, *p*H, концентрацию минеральных ионов, электропроводность, определяемые стандартными методами.

Наночастицы силикатов и алюмосиликатов. Наноматериалы, слагаемые наночастицами силикатов и алюмосиликатов (наноглины) представлены порошкообразными веществами, физические и физико-химические свойства которых во многом подобны свойствам оксидных наночастиц. При оценке их используются показатели размера, формы, площади поверхности частиц. При оценке с использованием методом ПЭМ необходимо учитывать, что наноглины представляют собой слоистые структуры, представленные листами или пластинами неопределённого диаметра и характеристической величиной является их толщина, точное определение которой методом ПЭМ может встретить определённые трудности. Поэтому при оценке глинистых материалов рекомендуется получение их электронно-микроскопической микрофотографии и сопоставление её общего вида с картиной, полученной для стандартного образца. Предварительная оценка химической принадлежности глинистых наночастиц может осуществляться в методе ПЭМ с использованием опции СХПЭЭ. При элементном анализе основных и примесных элементов в составе наноглин используются методы ИСП-МС, атомно-эмиссионного спектрального анализа, атомно-абсорбционной спектрофотометрии, рентгенофлуоресцентной спектрометрии

Квантовые точки. Квантовые точки представляют собой специфическую форму наночастиц полупроводниковых веществ (сульфиды, селениды, теллуриды и арсениды цинка, кадмия, галлия и некоторые другие виды бинарных и более сложных соединений), имеющие ультрамалые размеры (3 нм и менее) и обладающие характеристической флуоресценцией в видимой области, определяемой квантовыми свойствами частиц. Для частиц одного и того же химического состава длина волны флуоресценции тем меньше, чем меньше диаметр частиц. Основным методом, применяемым при подтверждении подлинности квантовых точек, является УФ-видимая спектрофотометрия. Анализу подвергается разбавленная в воде или органическом растворителе дисперсия наноматериала. Оценка квантовых точек требует также анализа их химического состава с использованием основных и примесных (легирующих) элементов методами ИСП-МС, атомно-эмиссионного спектрального анализа, атомно-абсорбционной спектрофотометрии, инверсионной вольтамперометрии. Особое внимание должно быть уделено определению количеств токсичных элементов (кадмия, мышьяка, селена, теллура и некоторых других).

Наночастицы органических полимеров. К наноматериалам на основе органических полимеров относятся наночастицы полимерных латексов (смол), являющиеся изолированными образованиями диаметром менее 100 нм с аморфной внутренней структурой и формой, близкой к сферической, и

дендримеры, представляющие собой разветвлённые (фрактальные) структуры. К показателям, применяемым при оценке соответствия полимерных наноматериалов, относятся физические (размер, форма частиц), физико-химические и химические (структура элементарного звена молекулы полимера), наличие примесей.

Биогенные наноматериалы. Биогенные наноматериалы образованы наночастицами биополимеров (нуклеиновых кислот, белков, пептидов, полисахаридов, липидов, рекомбинантных вирусов и псевдовирусных частиц), полученных методами биотехнологии. При оценке каждого из образцов стандартов биогенных наноматериалов необходим индивидуальный подход, учитывающий возможности использования наиболее специфичных для данного наноматериала молекулярно-биологических, биохимических, иммунохимических, физико-химических, химико-аналитических, спектральных методов, а также тестирования по воздействию на модельные биологические объекты. В зависимости от основных применяемых методов подтверждения подлинности наноматериалы биологического происхождения могут быть подразделены на следующие группы:

– ДНК-содержащие наноматериалы;

– РНК-содержащие наноматериалы;

– белоксодержащие наноматериалы, практически свободные от нуклеиновых кислот;

– прочие объекты (наночастицы полисахаридов, липидные мицеллы и др.).

ДНК-содержащие наночастицы (линейные и кольцевые молекулы ДНК и полидезоксинуклеотидов, ДНК-содержащие рекомбинантные вирусы и псевдовирусные частицы). Экспертная оценка производится путём идентификации в составе частиц специфических последовательностей дезоксирибонуклеотидов методом полимеразной цепной реакции с использованием олигонуклеотидных праймеров, воспроизводящих фрагмент последовательности ДНК данного вида. Образец признаётся соответствующим, если он даёт сигнал в полимерной цепной реакции (ПЦР), совпадающий с сигналом для стандартного образца наноматериала.

РНК-содержащие наноматериалы (молекулы РНК и полирибонуклеотидов, РНК-содержащие рекомбинантные вирусы и псевдовирусные частицы). Оценка осуществляется путём выявления в составе РНК образца специфических олигонуклеотидных последовательностей с помощью метода ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ).

Белоксодержащие наноматериалы, практически свободные от нуклеиновых кислот. Подлинность и соответствие подтверждаются путём выявления а) специфических пептидных последовательностей и б) специфической антигенной структуры. Первый из показателей проверяется методом масс-спектрометрии с лазерной десорбцией-ионизацией на матрице (MALDI). Подтверждение подлинности наноматериала проводится путём сравнения полученных масс-спектров (значений m/z пиков и их относительной интенсивности) пептидов со спектрами, представленными производителем (поставщиком) или с литературными (табличными) значениями для наноматериалов данного вида. При проверке второго из показателей применяются иммунохимические методы: двухвалентный твёрдофазный иммуноферментный тест на

полистироле (ИФА) и иммуноблоттинг с электрофоретическим переносом после электрофореза в полиакриламидном геле (ЭФ-ПААГ). Критерием подтверждения подлинности и соответствия белкового наноматериала в методе ИФА является совпадение величины сигнала (оптической плотности) тестируемого образца с сигналом от стандарта, взятого в эквивалентной концентрации, в пределах погрешности метода, определяемой совокупной ошибкой измерения объёмов реагентов и инструментальной погрешностью спектрофотометра. В методе иммуноблоттинга соответствие оценивается по электрофоретической подвижности (по числу и положению окрашенных антителами белковых полос или пятен), которая должна совпадать с данными для стандартного образца.

Прочие объекты. Критерием подтверждения подлинности наноматериалов биогенного происхождения, не содержащих в значимых количествах нуклеиновых кислот и белка (наночастицы полисахаридов, липополисахаридов, липидные мицеллы), является их химический состав, устанавливаемый методом масс-спектрометрии MALDI. В качестве дополнительных могут применяться методы Фурье ИК-спектроскопии, рамановской спектроскопии, ИК-фотолюминесцентной спектроскопии, УФ-ИК-спектроскопии поглощения, спектроскопии ЯМР. При наличии у образца биогенного наноматериала специфической биологической активности его соответствие может быть оценено путём проведения тестов на биологических объектах (культуры микроорганизмов, культуры клеток высших животных, лабораторные животные). Сведения о типе применяемой биологической тест-системе предоставляются поставщиком (производителем) продукции.

21.2. ПРОДУКЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ НАНОМАТЕРИАЛЫ

Основным требованием, предъявляемым к продукции нанотехнологии, является то, что использование нанотехнологий не должно ухудшать её функциональных или потребительских характеристик по сравнению с традиционным аналогом. При этом должно быть установлено соответствие продукции требованиям безопасности, действующим в Российской Федерации. Применительно к продукции наноиндустрии, следует исходить из следующих основных положений:

1. Применение нанотехнологий не должно ухудшать гигиенических показателей, определённых для данного типа продукции, по сравнению с традиционной аналогичной продукцией, произведённой без использования нанотехнологий.

2. Гигиенические показатели безопасности, разработанные для нерастворимых в воде и биологических жидкостях химических веществ традиционной дисперсности – аналогов наноматериалов, могут пересматриваться в сторону снижения безопасных доз и концентраций соответственно возрастанию удельной поверхности твёрдой фазы наноматериала в тех случаях, когда имеются данные, что токсические эффекты наночастиц связаны с физико-химическими процессами, протекающими на межфазных границах.

3. При возникновении сомнений в безопасности потребительской продукции нанотехнологий, определяемых наличием в составе продукции наночастиц и наноматериалов, обладающих средним или высоким уровнем потенциальной опасности, осуществляется токсиколого-гигиеническая характеристика продукции согласно МУ 1.2.2520–09 «Токсиколого-гигиеническая оценка безопасности наноматериалов». Тестированию может подвергаться как продукция в целом, так и входящие в её состав наноматериалы.

Продукция сельскохозяйственного назначения. Оценке на соответствие требованиям указанных нормативных документов подвергаются следующие виды продукции:

– минеральные удобрения (включая стимуляторы роста растений);
– мелиоранты и материалы для дренирования почвы;
– искусственные субстраты для защищенного грунта;
– кормовые добавки для животноводства и птицеводства;
– пестициды и ядохимикаты.

При санитарно-эпидемиологической экспертизе продукции наноиндустрии сельскохозяйственного назначения следует учитывать, что применение агрохимикатов, произведённых с использованием нанотехнологий, не должно приводить:

– к превышению гигиенических нормативов содержания в почве, воздухе, воде и сельскохозяйственной продукции опасных и токсичных веществ: радионуклидов, токсичных элементов, полициклических ароматических углеводородов, стойких органических загрязнителей и др.;
– нарушению естественного микробиоценоза почв;
– появлению в объектах окружающей среды патогенной микрофлоры, жизнеспособных яиц гельминтов, опасных для человека, цист патогенных кишечных простейших и других опасных биологических агентов;
– превышению содержания в сельскохозяйственной продукции остаточных количеств действующего начала агрохимиката в сравнении с сельскохозяйственной продукцией, обработанной по стандартной рецептуре традиционным аналогом данного вида нанотехнологической продукции (при его наличии).

Присадки к моторным топливам и каталитические конверторы-нейтрализаторы. При экспертизе продукции наноиндустрии, используемой в качестве присадок к моторным топливам и в качестве каталитических конвертеров-нейтрализаторов, заявителем должны быть представлены доказательства, что применяемые виды продукции:

– не приводят к увеличению выбросов вредных веществ в выхлопных газах двигателя (оксида углерода (II), оксидов азота, углеводородов и высокодисперсных частиц) выше установленных величин;
– не увеличивают долю выбросов вышеуказанных вредных веществ в выхлопных газах двигателя по сравнению с использованием присадок и каталитических нейтрализаторов традиционного состава (при наличии таковых).

Строительные материалы и лакокрасочная продукция. При санитарно-эпидемиологической экспертизе продукции, содержащей в качестве одного из компонентов наночастицы, должна быть определена миграция этих частиц из

материала в воздух жилых помещений. Использование материалов, миграция наноматериалов из которых превышает установленные уровни, не допускается. В отсутствие гигиенических нормативов на содержание наночастиц в воздухе жилых помещений следует ориентироваться на гигиенические нормативы, установленные для аналогичных веществ в традиционной дисперсности. При этом необходимо использовать временное положение о снижении величин ПДК для наноразмерных аэрозолей диоксида кремния и диоксида титана в 10 раз с учётом возрастания их удельной каталитической активности обратно пропорционально уменьшению размера частиц.

При проверке продукции необходимо получить подтверждение того, что к моменту ввода конструкций в эксплуатацию строительные материалы и лакокрасочные покрытия, полученные с использованием нанотехнологий, не создают в помещении специфического запаха, превышающею допустимую норму. Строительные материалы и лакокрасочные покрытия, являющиеся продукцией наноиндустрии, не должны выделять в окружающую среду летучие вещества в таких количествах, которые могут оказывать прямое или косвенное неблагоприятное действие на организм человека.

Во время эксплуатации конструкций, созданных с применением продукции нанотехнологий, в воздух помещений не должны выделяться из полимерных строительных материалов химические вещества, относящиеся в 1-му классу опасности. Содержание остальных веществ, выделяющихся из конструктивных материалов, не должно превышать установленные предельно-допустимые концентрации. При сравнении величин эмиссии нескольких одновременно выделяемых вредных веществ, обладающих суммацией действия, со значениями ПДК необходимо принимать во внимание, что сумма отношений концентраций к их ПДК не должна превышать единицу.

Материалы, полученные с применением нанотехнологий, признаются соответствующими требованиям безопасности в том случае, когда количество летучих веществ, выделяемых ими, не превосходит значений для аналогичных по функциональным характеристикам строительных материалов и лакокрасочных покрытий, полученных без применения нанотехнологий.

Строительные материалы и лакокрасочные покрытия – продукция наноиндустрии признаются соответствующими требованиям безопасности, если они не стимулируют развития микрофлоры (особенно патогенной), устойчивы к влажной дезинфекции при их использовании для внутренней отделки лечебно-профилактических, санаторно-курортных, детских, дошкольных, школьных и других аналогичных зданий.

Парфюмерно-косметическая продукция. Продукция наноиндустрии, используемая в качестве парфюмерно-косметических средств (средства, предназначенные для наружного нанесения на кожу, и/или волосы, и/или ногти, и/или губы, и/или зубы, и/или слизистую оболочку полости рта, и/или наружные половые органы человека исключительно в следующих целях (по отдельности или в любой комбинации): а) очищения и/или изменения их внешнего вида без нарушения их целостности; б) придания им приятного запаха и/или коррекции запаха; в) ухода, проверяется на соответствие установленным для данной продукции показателям безопасности. Косметическая продукция не может быть допущена к реализации, если в её состав входят твёрдые нерас-

творимые в воде наночастицы элементарных веществ или соединений следующих химических элементов: сурьмы, селена, теллура, неодима, таллия, никеля. В ходе санитарно-эпидемиологической экспертизы парфюмерно-косметической продукции, содержащей новые виды наночастиц и наноматериалов, проводится их экспериментальная токсикологическая оценка на лабораторных животных.

Фильтры для питьевой воды. Устанавливается количество наночастиц, мигрирующих из фильтра в воду. При проведении испытаний следует использовать методы количественного (элементного) анализа воды согласно данным о составе наноматериала, в том числе представленным производителем (поставщиком). Количество наночастиц и/или наноматериалов, мигрирующих в воду, не должно превышать показатели, установленные для его аналога традиционной дисперсности**.**

При проведении санитарно-эпидемиологической экспертизы фильтров для воды, произведённых с использованием нанотехнологий и наноматериалов, следует иметь в виду, что применяемые нанотехнологии не должны ухудшать органолептические, санитарно-химические, санитарно-микробиологические, паразитологические и радиологические показатели пропущенной через фильтр воды по сравнению с водой, полученной пропусканием через фильтр аналогичного состава и конструкции, произведённый без использования нанотехнологий.

Упаковка пищевых продуктов и материалы, контактирующие с пищевыми продуктами. При санитарно-эпидемиологической экспертизе продукции наноиндустрии, представляющей собой упаковку пищевых продуктов или материалы, контактирующие с пищевыми продуктами (посуда, кухонная утварь и т.д.), производится оценка миграции химических веществ, наночастиц и наноматериалов из упаковки.

Упаковка и материалы, контактирующие с пищевыми продуктами, полученные с использованием нанотехнологий или содержащие в своём составе наночастицы и наноматериалы, признаются безопасными, если они не вызывают миграции вредных веществ в пищевые продукты и воду в количествах, превосходящих соответствующие значения для аналогичной упаковки, полученной с использованием традиционных технологий. При включении в состав упаковки и материалов, контактирующих с пищевыми продуктами, наночастиц неорганических веществ, эти материалы признаются соответствующими показателям безопасности, если миграция входящих в упаковки наночастиц химических элементов не превосходит установленных нормативов. При этом для наночастиц диоксида титана и диоксида кремния временно рекомендуется снижение допустимых значений в 10 раз с учётом вероятной связи их токсического действия с процессами, происходящими на межфазных границах наночастиц. Упаковка и материалы, контактирующие с пищевыми продуктами, не могут быть признаны безопасными, если в их состав входят наноматериалы, обладающие доказанным вредным действием на организм человека – асбест и кристаллический диоксид кремния (кварц) в наноразмерной форме.

Пищевые продукты. Пищевые продукты, полученные с использованием нанотехнологий или содержащие в своем составе продукцию нанотехнологий, по своим органолептическим показателям (вкус, цвет, запах, консистенция)

должны соответствовать традиционно сложившимся вкусам и привычкам населения. Органолептические свойства продукции не должны изменяться при хранении, перевозке и реализации на протяжении всего срока годности продукта при регламентированных условиях хранения. В пищевой продукции, полученной с использованием нанотехнологий, контролируется содержание основных химических загрязнителей, представляющих опасность для здоровья человека, в соответствии с установленными требованиями. В пищевых продуктах, полученных с использованием нанотехнологий, не допускается наличие патогенных микроорганизмов и возбудителей паразитарных заболеваний. В пищевых продуктах, полученных с использованием технологий нанодиспергирования и наноинкапсулирования, анализ санитарно-химических, санитарно-микробиологических и радиологических показателей безопасности проводится как в готовой упакованной продукции, так и в исходном сырье. Применяемые нанотехнологии не должны приводить к ухудшению санитарно-химических, санитарно-микробиологических, паразитологических и радиологических показателей безопасности по сравнению с аналогичной технологией традиционного типа. Показатели безопасности пищевых продуктов, полученных с использованием нанотехнологий, не меняющих традиционную степень дисперсности их компонентов (нанофильтрация, обработка наноразмерными адсорбентами), должны соответствовать установленным санитарно-эпидемиологическим требованиям и гигиеническим нормативам. Применяемая технология не должна приводить к накоплению в конечном продукте наночастиц и наноматериалов, входящих в состав технологических средств. Пищевые продукты, пищевые добавки и БАД к пище, представляющие собой продукцию нанотехнологий или произведённые с помощью нанотехнологий, должны иметь этикетки в соответствии с установленными требованиями.

21.3. КЛАССИФИКАЦИЯ НАНОТЕХНОЛОГИЙ И ПРОДУКЦИИ НАНОИНДУСТРИИ ПО СТЕПЕНИ ИХ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ОПАСНОСТИ

Классифицирование продукции наноиндустрии и технологий, применяемых при ее производстве (далее – нанотехнологий), по степени потенциальной опасности для здоровья населения и среды обитания, в т.ч. на стадии рассмотрения проектов нанотехнологических производств, осуществляется в следующих целях.

1. Выявление продукции наноиндустрии, представляющей потенциальную опасность для жизни и здоровья человека, а также возможности причинения вреда здоровью человека при изготовлении, обороте, употреблении (использовании) и утилизации данной продукции.

2. Определение производств, применяющих в технологическом процессе потенциально опасные наноматериалы и способных вследствие этого нанести вред состоянию здоровья работников данных предприятий, населения, в т.ч. проживающего на прилегающих территориях, и окружающей среде.

3. Разработка комплекса мер, направленных на обеспечение безопасности продукции наноиндустрии для потребителя (в частности, замена более опасных наноразмерных компонентов менее опасными, нанесение предупредительных надписей на продукцию и ее упаковку при маркировке и этикетировании, меры по недопущению ненадлежащего использования и утилизации продукции наноиндустрии и др.);

4. Минимизация рисков, связанных с применением нанотехнологий и наноматериалов в производственных процессах путем разработки и внедрения комплекса мероприятий по обеспечению безопасных условий труда и предотвращения загрязнения окружающей среды.

Результатом классифицирования продукции наноиндустрии по степени потенциальной опасности является отнесение ее к продукции с ***низкой, средней или высокой*** степенью потенциальной опасности для следующих групп риска: а) потребителей; б) работников предприятий отрасли, населения и окружающей среды.

Потребители. Для продукции наноиндустрии ***с низкой степенью*** потенциальной опасности не требуется проведения специальных оценок в области ее безопасности для потребителей, за исключением случаев, предусмотренных законодательством Российской Федерации для всей продукции данного типа.

Для продукции наноиндустрии ***со средней степенью*** потенциальной опасности рекомендуется проведение токсиколого-гигиенической оценки безопасности наночастиц и наноматериалов, содержащихся в продукции. Для отдельных видов продукции, такой как упаковочные материалы, контактирующие с пищевой продукцией, дополнительно рекомендуется проведение санитарно-химических исследований миграции наночастиц в продукт. На основании результатов проведенных оценок разрабатывается комплекс мер по снижению рисков, возникающих для потребителей продукции наноиндустрии, включая нанесение предупредительных надписей на продукцию или ее упаковку, информирование потребителя о новых свойствах продукции, порядке ее безопасного применения (использования) и мерах предосторожности при ее надлежащей утилизации.

Для продукции наноиндустрии ***с высокой степенью*** потенциальной опасности рекомендуется проведение токсиколого-гигиенической, медико-биологической и при необходимости санитарно-химической оценки на адекватных биологических тест-системах, включая выявление возможного наличия отдаленных неблагоприятных эффектов (мутагенность, репродуктивная токсичность, нейротоксичность, эмбриотоксичность, тератогенность, канцерогенность, аллергенность, иммунотоксичность, органотоксичность. По результатам проведенной оценки разрабатывается комплекс мер по снижению рисков, возникающих для населения, включая возможное изменение технологии и рецептуры продукции.

Работники предприятий отрасли, население и окружающая среда. Для нанотехнологии ***с низкой степенью*** потенциальной опасности не требуется проведения специальных оценок в области безопасности в части эффектов, обусловленных воздействием веществ в форме наночастиц и наноматериалов. Нанотехнологические производства должны соответствовать требованиям

законодательства Российской Федерации, установленным для производств аналогичной продукции, полученной по традиционным технологиям, не использующим наночастицы и наноматериалы.

Для нанотехнологии ***со средней степенью*** потенциальной опасности дополнительно рекомендуется проведение общетоксикологической оценки безопасности наночастиц и наноматериалов, используемых в производственном процессе с использованием соответствующих методов, утвержденных в установленном порядке. По результатам проведенных тестов разрабатывается комплекс мер по снижению рисков, обусловленных воздействием наночастиц и наноматериалов, на производстве, включая установление критических контрольных точек производства, связанных с возможным поступлением наночастиц и нанообъектов в воздух производственных помещений, атмосферный воздух прилегающей к предприятию территории и промышленные сточные воды, использование индивидуальных и коллективных средств защиты, внедрение технологии очистки газообразных и жидких промышленных выбросов и стоков от наночастиц и нанообъектов, разработку правил надлежащей утилизации (захоронения) твердых отходов производства и др.

Для нанотехнологии ***с высокой степенью*** потенциальной опасности дополнительно рекомендуется проведение развернутой токсиколого-гигиенической и медико-биологической оценки в соответствии с методическими документами, утвержденными в установленном порядке. По результатам проведенной оценки разрабатывается комплекс мер по снижению рисков для работников данных предприятий, населения и окружающей среды (проведение стадий производственного процесса, характеризуемых высоким риском, в изолированных камерах или аппаратах, применение систем вентиляции и очистки воздуха и др.).

21.4. МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ НАНОМАТЕРИАЛОВ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩИХ ПОТЕНЦИАЛЬНУЮ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

Выявление наноматериалов, представляющих потенциальную опасность для здоровья человека, является прогнозно-аналитической процедурой, включающей в себя:

- сбор научной, научно-технической, методической, нормативной информации о свойствах и биологических эффектах наночастиц и наноматериалов;
- оценку достоверности собранных данных;
- математическое моделирование на основе полученной информации возможных вредных последствий от экспонирования наноматериалами организма человека;
- принятие решения на проведение токсиколого-гигиенических исследований и их планирование.

Под прогнозно-аналитической процедурой понимается алгоритм обработки информации, содержащейся в источниках научных данных о наноматериалах и нанотехнологической продукции, позволяющей с высокой степенью

достоверности предсказать возможность появления у этих объектов свойств, потенциально опасных для здоровья и жизни человека и среды его обитания.

Информация о свойствах наноматериалов включает в себя данные о физической, физико-химической, молекулярно-биологической, цитологической, физиологической, токсикологической и экологической характеристике наноматериалов, полученные с использованием адекватных методов исследования и подтвержденные в соответствии с принятыми в соответствующих областях исследования критериями достоверности.

Целью проведения комплекса прогнозно-аналитических оценок наноматериалов является получение научными методами максимально достоверных оценок возможного неблагоприятного воздействия наноматериалов на здоровье человека путем анализа существующей научной информации о свойствах наноматериалов в целях обоснования объемов необходимых экспериментальных токсиколого-гигиенических исследований.

21.5. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ АНАЛИЗА НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

Информация о свойствах наноматериалов, содержащаяся в используемых научно-технических источниках, классифицируется, систематизируется и анализируется в следующей ***последовательности функциональных блоков*** в соответствии с их значимостью.

21.5.1. ФИЗИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Физическими характеристиками, влияющими на опасность наноматериалов и наночастиц для здоровья человека, являются их размер и форма. Под размером частиц понимается минимальный по одному из трех измерений размер объекта. Например, для сферических частиц размер соответствует их диаметру, для эллипсоидальных – меньшей из осей эллипсоида, для волокнистых и трубчатых – диаметр волокна/трубки; для пленок и фрактальных образований – толщина слоя. Размер является существенным показателем, поскольку с уменьшением размера частиц при одной и той же массовой концентрации материала в единице объема число частиц возрастает обратно пропорционально третьей степени размера, а общая площадь поверхности – обратно пропорционально квадрату размера. Тем самым увеличивается риск вредного воздействия частиц на живые системы, поскольку основные механизмы повреждающего действия наночастиц на живые системы связаны с процессами, протекающими на межфазных границах.

Форма наночастиц определяется отношением максимального из размеров частиц по одному из трех измерений к минимальному (так называемым формфактором). Формфактор может варьировать от 1 (для частиц сферической формы) до 1000 и более в случае нановолокон и нанотрубок неопределенно большой длины. Показатель формы является существенным, поскольку, по данным экспериментальных исследований, нановолокна и нанотрубки с

высоким значением формфактора значительно слабее элиминируются клетками иммунной системы из нормальных тканей по сравнению с частицами, форма которых близка к сферической. Ввиду этого возрастает время контакта частицы с тканью и соответственно вероятность ее токсического действия.

21.5.2. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

В числе основных физико-химических характеристик, определяющих потенциальную опасность для здоровья человека, рассматриваются растворимость в воде и биологических жидкостях, заряд частицы, адсорбционная емкость, устойчивость к агрегации, гидрофобность, адгезия к поверхностям, способность генерации свободных радикалов. *Растворимость* наноматериалов в воде является высоко значимым фактором, определяющим их токсичность. Наночастицы, образованные водорастворимыми веществами, при попадании в водное окружение быстро диссоциируют с образованием молекулярных или ионных растворов, токсические свойства которых в дальнейшем определяются только химическим составом составляющих их компонентов. Иначе говоря, растворимые наночастицы, как правило, не отличаются по своим токсикологическим свойствам от их химических аналогов традиционной дисперсности. Напротив, частицы веществ, нерастворимых в воде, способны находиться длительное время в свободном состоянии в биологическом окружении, вызывая биологические эффекты, определяемые их поверхностными характеристиками. Растворимость в биологических жидкостях является относительно менее существенным фактором, т.к. водонерастворимые наночастицы, как правило, не диссоциируют и в биологическом окружении (плазма крови, межклеточная жидкость, цитозоль). Исключение составляют высокогидрофобные водонерастворимые материалы на основе углерода (нанотрубки, фуллерены), для которых возможно в ряде случаев повышение растворимости в биологических средах за счет эффекта солюбилизации в белковых растворах. Заряд частиц является высокозначимым фактором. По данным литературы, наибольшую опасность представляют положительно заряженные частицы, обладающие высоким сродством к макромолекулам ДНК и, следовательно, потенциалом генотоксического и мутагенного воздействия. Отрицательно заряженные частицы не обладают такими свойствами, однако для них характерна повышенная способность проникновения через тканевые барьеры (кожный, кишечный, гематоэнцефалический). В наименьшей степени опасные биологические эффекты следует ожидать у нейтральных наночастиц.

Адсорбционная емкость в настоящее время оценена для относительно небольшого числа наноматериалов. Ее значение может состоять в повышении вероятности транспорта (переноса) на наночастицах посторонних примесей токсикантов из внешней среды во внутреннюю среду организма. Значение данного показателя для оценки потенциальной опасности данного наноматериала как такового относительно невелико, поскольку для его проявления необходимым дополнительным условием является присутствие постороннего токсиканта. Устойчивость к агрегации является фактором, влияющим на ток-

сичность наночастиц. По некоторым данным, в результате слипания агрегационно-неустойчивых наночастиц их токсичность снижается. Однако имеются сведения, что ряд наноматериалов в форме фрактальных агрегатов сохраняет токсичность, которая оказывается значительно большей по сравнению со сплошными макрочастицами того же размера и массы. Ввиду этого значимость оценки данного фактора для общей характеристики опасности относительно невелика**.** *Гидрофобность* наночастиц является фактором, усиливающим их взаимодействие с мембранами, упрощающим проникновение в клетки и замедляющим клиренс частиц из организма. Вместе с тем имеется большое число данных о том, что наиболее токсичными могут быть гидрофильные наночастицы. В свете этого значимость показателя гидрофобности для общей оценки токсичности незначительна. *Адгезия* наночастиц к поверхности может усиливать их проникновение через тканевые барьеры, в частности, через эпителиальный барьер кишки по механизму эндоцитоза. Однако данных, свидетельствующих о связи адгезии частиц с их токсичностью, не получено. Таким образом, значимость этого фактора для оценки опасности незначительна. Способность *генерировать свободные радикалы* является существенным фактором, определяющим токсические свойства наночастиц. По современным данным, основная часть процессов повреждающего действия наноматериалов как на клетки в культуре, так и на органы и ткани в организме опосредуется механизмами свободнорадикального перекисного окисления, инициируемыми реакционноспособными формами кислорода, образующимися на поверхности наночастиц в процессах гетерогенного химического катализа. Ввиду этого выявление у наночастиц подобных каталитических свойств имеет высокую значимость при выявлении их потенциальной опасности.

21.5.3. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

В данном функциональном блоке объединяются свойства наночастиц, состоящие в их способности взаимодействовать с биологическими макромолекулами и надмолекулярными структурами. Взаимодействие с ДНК является наиболее существенным признаком, т.к. оно определяет возможное проявление наноматериалом генотоксических и мутагенных свойств. Взаимодействие с клеточными мембранами может быть фактором, ускоряющим проникновение наночастиц в клетку. Однако согласно имеющимся в литературе данным, быстро проникающие в клетку наночастицы могут обладать как высокой, так и незначительной цитотоксичностью. Ввиду этого значимость данного фактора при выявлении опасности наночастиц относительно невелика. Взаимодействие с белками может быть причиной изменения под действием наночастиц ферментативной активности и метаболомного профиля клеток и тканей. Значение этого фактора для опасности наноматериалов незначительно ввиду быстропротекающих процессов элиминации и обновления поврежденных клеточных и тканевых белков под действием защитных систем (система лизосом на уровне клетки и ретикулоэндотелиальная система на уровне организма).

21.5.4. ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Взаимодействие наночастиц и наноматериалов с клетками в культуре составляет важную группу факторов, которую необходимо учитывать при оценке потенциальной опасности наноматериалов для здоровья. В составе рассматриваемого функционального блока следующие показатели.

Наличие трансформирующей активности, т.е. способности наноматериалов вызывать злокачественную трансформацию (малигнизацию) клеток в культуре, является высоко значимым фактором. Цитотоксичность, т.е. способность наноматериалов вызывать гибель клеток (по механизмам некроза или апоптоза) или приводить к появлению в них более или менее стойких морфологических изменений, является высоко значимым фактором. По степени выявления цитотоксичности наиболее значимыми являются данные о развитии летальных изменений в нормальных (нетрансформированных) клетках, далее в порядке убывания стойких нелетальных изменений в нормальных клетках, летальных изменений в опухолевых клетках, обратимых морфологических изменений в клетках различных типов. Способность к накоплению в клетках без видимого изменения их структуры, часто отмечаемая для различных видов наноматериалов, может быть существенна при выявлении их опасности для организма в целом, однако значимость этого признака менее существенна в сравнении с прямой цитотоксичностью и трансформирующей способностью.

Влияние на протеомный и метаболомный профиль указывает на способность наночастиц оказывать влияние на процессы экспрессии генов, биосинтеза белка и процессы обмена веществ. Поскольку данные изменения, фиксируемые на уровне клетки, при переносе на уровень организма могут рассматриваться как имеющие адаптивный характер, значимость этого признака в общей оценке опасности относительно невелика.

21.5.5. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ[53]

Данный функциональный блок включает в себя следующие признаки. ***Острая токсичность.*** Наличие у наноматериала острой токсичности при введении в организм животных является высоко значимым признаком, определяющим его опасность. ***Хроническая токсичность***. Это также высоко значимый признак. В зависимости от использованной модели при оценке хронической токсичности по мере удаления в эволюционном плане соответствующих тест–систем от человека градациями выраженности признака (в порядке убывания) являются: токсичность для теплокровных позвоночных (млекопитающие, птицы), токсичность для холоднокровных позвоночных (рыбы, амфибии), токсичность для беспозвоночных, токсичность для растений и микроорганизмов. ***Специфические и отдаленные эффекты токсичности.*** Наличие у наноматериала канцерогенного или мутагенного, или эмбриотоксического, или тератогенного, или гонадотоксического, или аллергенного, или иммунотоксического действия, или любой комбинации этих эффектов являет-

[53] Подробное описание методов токсикометрии см. в главах 6 и 7.

ся признаком, высоко значимым для оценки опасности. ***Накопление в органах и тканях.*** В результате накопления и задержки наноматериала в органах и тканях возрастает время контакта наночастиц с клетками, что потенциально способно приводить к увеличению вероятности токсического действия. Однако для некоторых практически важных наноматериалов этот эффект далеко не всегда сопровождается негативными последствиями, поэтому значимость этого признака меньше в сравнении с тремя предыдущими. ***Усиление проницаемости барьеров организма для токсикантов.*** Данный признак определяется сочетанием у наноматериала свойств проникать через барьеры организма и высокой адсорбционной активности. Поскольку необходимым условием проявления признака является наличие, в дополнение к наноматериалу как таковому, токсических веществ традиционной степени дисперсности, значимость данного фактора для характеристики специфики токсического действия наноматериалов относительно невелика.

Проникновение через барьеры организма. Для ряда видов наночастиц показано их проникновение через барьер желудочно-кишечного тракта, кожные покровы, через легкие и гематоэнцефалический барьер. Однако прямой корреляции данного фактора с наличием у наноматериала опасных (токсических) свойств не выявлено. Кроме того, точно не установлено, в какой мере парацеллюлярное проникновение корпускулярных материалов через эпителиальные барьеры является нормальным физиологическим процессом, связанным с адаптационными реакциями организма. Вследствие этого значимость данного фактора для характеристики специфики токсического действия наноматериалов невелика.

21.5.6. ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

В данный функциональный блок включены параметры, определяющие вероятность экспонирования человека наноматериалами, и пути их распространения в окружающей среде. ***Мировой объем производства***. Это высоко значимый фактор, определяющий экспонирование человека наноматериалами и, следовательно, вносящий существенный вклад в оценку их потенциальной опасности. Действительно, для наноматериалов, представляющих собой уже в настоящее время крупнотоннажные химические продукты (наноразмерные диоксиды титана и кремния, серебро, фуллерены), вероятность экспонирования человека как вследствие непосредственного контакта с продукцией, так и в результате миграции наночастиц в биосфере достаточно велика. С другой стороны, для некоторых видов квантовых точек, производимых в индикаторных количествах и находящих крайне ограниченное применение в некоторых отраслях научных исследований, круг экспонируемых лиц ограничивается лабораторным персоналом, применяющим данный наноматериал в своей профессиональной деятельности. ***Возможность прямого экспонирования людей наноматериалами.*** Значимость этого фактора также первостепенна. Градациями его выраженности в порядке убывания являются: 1) население в масштабе страны; 2) потребители нанотехнологической продукции (товаров народного потребления, вырабатываемых с использованием наноматериалов);

3) персонал массовых нанотехнологических производств; 4) персонал научных и производственных лабораторий, занятый разработками нанопродукции или ее использованием в исследовательских целях. ***Данные о накоплении в организмах.*** Ввиду того, что путь поступления наноматериалов в организм человека по пищевым цепям (с сельскохозяйственной продукцией, контаминированной наноматериалами) является опосредованным, значимость этого признака относительно ниже по сравнению с прямой экспозицией человека наноматериалами. Выраженность данного признака убывает в соответствии с «антропным» принципом в порядке «удаленности» того или иного компонента биоты от человека, т.е. в последовательности: 1) сельскохозяйственные животные и культурные растения; 2) массовые компоненты биоты – животные, растения и микроорганизмы; 3) малочисленные компоненты биоценозов, безразличные с точки зрения хозяйственной деятельности; 4) «вредные» виды (сорняки и животные – вредители сельскохозяйственных культур). ***Данные о накоплении в почве и абиотических объектах внешней среды (открытые и грунтовые воды, донные отложения и др.).*** Значимость этого показателя ниже, чем предыдущего, т.к. неочевидной является биодоступность наночастиц в составе этих сред для массовых компонентов биоценоза, участвующих в передаче наноматериалов по трофическим цепям.

21.6. АЛГОРИТМ ВЫЯВЛЕНИЯ НАНОМАТЕРИАЛОВ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩИХ ПОТЕНЦИАЛЬНУЮ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

Применение алгоритмов выявления наноматериалов, представляющих потенциальную опасность для здоровья человека, должно обеспечивать с максимально возможной на данном уровне знаний достоверностью отнесение подвергаемого оценке наноматериала, как минимум, к одному из трех уровней потенциальной опасности, а именно:

- ***низкая степень потенциальной опасности***. Токсикологическая оценка наноматериала осуществляется по показателям, рекомендованным для составляющих его компонентов в традиционной форме (макродисперсной или в виде сплошных фаз). Исследования по специфическому биологическому действию компонентов в виде наночастиц могут проводиться выборочно;
- ***средняя степень потенциальной опасности***. Осуществляется общетоксическая оценка материала в форме наночастиц и при необходимости проводятся некоторые виды специальных исследований;
- ***высокая степень потенциальной опасности***. Проводится полный комплекс исследований по изучению проникновения наноматериалов через биологические мембраны и барьеры организма, распределению и накоплению в органах и тканях, выведению из организма, общетоксическая оценка (острая, подострая и хроническая токсичность), комплекс специальных исследований, включающий тестирование на генотоксичность, мутагенность, эмбриотоксичность, гонадотоксичность, тератогенность, влияние наноматериалов на геномный (экспрессия генов), протеомный и метаболомный профиль орга-

низма, иммунотоксичность, органотоксичность, проницаемость барьера желудочно-кишечного тракта, аллергенность.

Методическим подходом к реализации указанных алгоритмов, позволяющим с наибольшей степенью достоверности определить наноматериалы, представляющие опасность для здоровья человека, является метод математического моделирования, описанный применительно к техническим, биологическим и экологическим объектам в руководствах (Гмошинский, 1972; 1977).

21.6.1. МЕТОД МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Снижение субъективизма оценки в методе математического моделирования достигается за счет использования подхода, основанного на построении генеральной определительной таблицы (ГОТ). Под генеральной определительной таблицей понимается упорядоченное перечисление признаков анализируемого объекта с указанием их ***возможных градаций (состояний) и степени значимости (веса).***

Таблица представляет собой перечисление признаков наноматериала, группированных по функциональным блокам, приведенным в разделе 21.3, и упорядоченных в соответствии с их значимостью. Значимость признака в простейшем случае определяется из анализа литературных источников, а именно обзорных статей, метаисследований и нормативно-методических документов, обобщающих большой объем исследований по оценке относительной значимости признаков для выявления опасности наноматериала. Для снижения субъективности оценки на данном этапе может быть также применен метод экспертных оценок («Дельфийский метод»).

После ранжирования признаков в порядке убывания осуществляется их «взвешивание», а именно присвоение каждому рангу (порядковому номеру) признака величины «взвешивающей функции», определяющей его относительную значимость. Смысл «взвешивающей функции» состоит в том, что она «заменяет» работу исследователя по оценке признака. При проведении оценки исследователь присваивает первому по значимости признаку наибольший вес, а далее веса убывают, причем для очень мало значимых признаков ранг стремится к нулю. Следовательно, «взвешивающая функция» φ для ранга i должна удовлетворять следующим требованиям:

$$\begin{array}{ll} \text{при } i = 1 & \varphi(i) = \max \\ \text{при } i \to \infty & \varphi(i) = 0 \\ \varphi \text{ для любого } i & |\varphi(i)| > |\varphi(i+1)| \end{array} .$$

Для живых систем, к числу которых относятся биологические объекты, подвергаемые действию наноматериалов, наилучшим видом функции $\varphi(i)$ является:

$$\varphi(i)=\begin{cases} 2, & \text{если } i=1 \\ \dfrac{i}{2^{i-1}}, & \text{если } i>1. \end{cases}$$

То есть в зависимости от порядкового номера (ранга) признака «взвешивающая функция» принимает значения (табл. 21.1).

Таблица 21.1

Значение «взвешивающей функции» φ(*i*)

i	**φ (*i*)**
1	2,0
2	1,0
3	0,75
4	0,5
5	0,3125
6	0,1875
...	...

Количественной мерой интенсивности каждого из оцениваемых признаков в пределах функционального блока является оценка в баллах. При этом, если признак является альтернативным (т.е. если возможны только две оценки: да, нет), то производится оценка по 2-балльной системе, а если возможен ряд градаций признака, то в простейшем случае – по 5-балльной. При этом максимальной выраженности признака, отвечающей наибольшей мере потенциальной опасности, должен соответствовать наибольший возможный балл – 4. В случае если минимальная выраженность признака фактически исключает (в пределах данного функционального блока) проявление наноматериалом опасных свойств, ей соответствует минимальный балл – 0. Если даже при минимально возможной выраженности признака опасные свойства не исключаются или исключаются не полностью, то ей присваивается значение 2 или 1 балл.

Отдельно рассматривается вопрос об отсутствующих (неполных) данных. В случае если во всем доступном объеме источников отсутствуют сведения об оценке для наноматериала рассматриваемого признака, то данный признак для анализируемого объекта признается неопределенным. В этом случае ему присваивается величина балла, средняя между минимально и максимально возможной.

Расчет «частной» опасности наноматериала по данному функциональному блоку свойств производится по формуле (21.1):

$$D_k=\frac{\sum_{i=1}^{N} R_i \varphi(i)}{\sum_{i=1}^{N} R_i^N \varphi(i)}, \qquad (21.1)$$

где k – порядковый номер функционального блока; D_k – его «частная» опасность; i – порядковый номер признака; N – общее число признаков в функциональном блоке; R_i – оценка выраженности признака в баллах; $R_i^{\max}$ – максимально возможная балльная оценка данного признака. В рамках данной модели

по умолчанию $R_i^{\max} = 4\frac{1}{2}$; φ($i$) – значение «взвешивающей функции» для i-го признака в соответствии с его рангом, приведенным в ГОТ.

При одинаковом уровне значимости разных признаков в пределах одного функционального блока им может присваиваться одинаковый ранг.

По определению, максимально возможным значением «частной опасности» может быть $D_k = 1$ в том случае, когда все признаки в пределах функционального блока оцениваются максимальным рангом. Минимальное значение D_k для каждого функционального блока приведено в ГОТ.

Итоговая оценка опасности рассматривается как длина вектора в 6-мерном пространстве «частых» опасностей и рассчитывается по формуле (21.2):

$$D = \sqrt{\sum_{k=1}^{6} D_k^2}\ . \qquad (21.2)$$

Минимальное значение D, отвечающее, предположительно, полному отсутствию опасности, при расчете по последним двум формулам в соответствии с ГОТ составляет 0,441, а максимальное, отвечающее самой высокой опасности, – 2,499. Классификация объекта (наноматериала) по признаку опасности для здоровья человека осуществляется в соответствии с данными, приведенными в табл. 21.2.

Таблица 21.2

Оценка результатов выявления потенциальной опасности наноматериалов

№	Значение D	Результат
1	0,441–1,110	Низкая степень потенциальной опасности
2	1,111–1,779	Средняя степень потенциальной опасности
3	1,780–2,449	Высокая степень потенциальной опасности

Важной характеристикой получаемого результата является мера его неопределенности. Она тем больше, чем в большем числе случаев в анализируемом массиве источников отсутствуют сведения об оценке для наночастицы того или иного признака по каждому из функциональных блоков. Для того чтобы охарактеризовать неопределенность количественно, рассчитывается «коэффициент неполноты» оценки (U) по формуле (21.3):

$$U = \frac{\sum_{i=1}^{25} U_i \varphi_i}{\sum_{i=1}^{25} \varphi_i}, \qquad (21.3)$$

где U_i принимает значение 1, если i–й признак признается неопределенным и 0 – при любой другой его оценке; φ_i – величина «взвешивающей функции» для данного признака.

Суммирование ведется по всем 25 признакам шести функциональных блоков, представленных в ГОТ. Конечная характеристика неполноты оценки опасности проводится в соответствии с табл. 21.3.

Таблица 21.3

Значения коэффициента неполноты (*U*) оценки опасности наноматериала

№	Значение U	Характеристика
1	0–0,250	Оценка достоверна. Имеющихся данных достаточно для выявления степени опасности наноматериала
2	0,251–0,750	Оценка сомнительна. Ряд важных параметров, характеризующих опасность наноматериала, в использованных источниках не исследован
3	0,751–1,000	Оценка недостоверна. Имеющихся данных крайне недостаточно для выявления степени опасности наноматериала. Необходим дополнительный поиск источников или проведение экспериментальных исследований

Ниже приводится генеральная определительная таблица (ГОТ) для выявления наноматериалов, представляющих потенциальную опасность для здоровья человека (табл. 21.4).

Таблица 21.4

Генеральная определительная таблица (ГОТ) исходных данные для выявления наноматериалов, представляющих потенциальную опасность для здоровья человека

№	Признаки	Ранг	Значение «взвешивающей функции» φ	Возможные состояния признака	Оценка в баллах *R*	Балл *R*, если неизвестно
1	2	3	4	5	6	7
Блок 1. Физические характеристики (минимальное значение D_1 = 0,25)						
1	Минимальный размер частицы в одном из измерений	1	2	Преобладают частицы менее 5 нм	4	2
				Преобладают частицы 5–50 нм	3	
				Преобладают частицы 50–100 нм	2	
				Преобладают частицы > 100 нм, но есть существенная фракция < 100 нм	1	
				Преобладают частицы > 100 нм, содержание меньших частиц несущественно	0	
2	Формфактор (отношение максимального размера к минимальному)	1	2	Частицы крайне несферичны (формфактор > 100)	4	3
				Частицы высоко несферичны (10–100)	3	
				Форма частиц близка к сферической (1–10)	2	
Блок 2. Физико-химические свойства (минимальное значение D_2 = 0,21429)						
1	Растворимость в воде	1	2	Нерастворимы	4	2
				Растворимы	0	
2	Растворимость в биологических жидкостях	2	1	Нерастворимы	4	2
				Малорастворимы	2	
				Растворимы	0	
3	Заряд	1	2	Положительный	4	3
				Отрицательный	3	
				Не заряжены	2	
4	Адсорбционная емкость	3	0,75	Высокая	4	3
				Низкая	2	
5	Устойчивость к агрегации	3	0,75	Высокая	4	2
				Низкая	0	

Продолжение табл. 21.4

1	2	3	4	5	6	7
6	Гидрофобность	4	0,5	Гидрофобны	4	3
				Гидрофильны	2	
7	Адгезия к поверхностям	5	0,3125	Высокая	4	3
				Низкая	2	
8	Способность генерировать свободные радикалы	2	1	Выявлена	4	2
				Выявлена в условиях освещения	2	
				Не выявлена	0	
Блок 3. Молекулярно-биологические свойства (минимальное значение D_3 = 0,25)						
1	Взаимодействие с ДНК	1	2	Выявлено	4	2,5
				Не выявлено	1	
2	Взаимодействие с белками	3	0,75	Выявлено	4	2,5
				Не выявлено	1	
3	Взаимодействие с мембранами	2	1	Выявлено	4	2,5
				Не выявлено	1	
Блок 4. Цитологические свойства (минимальное значение D_4 = 0,043478)						
1	Способность к накоплению в клетках	2	1	Накапливается в органеллах и цитозоле	4	3
				Накапливается только в органеллах	3	
				Накапливается только в цитозоле	1	
2	Трансформирующая активность	1	2	Выявлена	4	2
				Не выявлена	0	
3	Влияние на протеомный и (или) метаболомный профиль	3	0,75	Выявлена	4	2
				Не выявлена	0	
4	Токсичность для клеток	1	2	Вызывает летальные изменения в нормальных клетках	4	2
				Вызывает стойкие нелетальные морфологические изменения в нормальных клетках	3	
				Вызывает летальные изменения в трансформированных клетках	2	
				Вызывает обратимые морфологические изменения в клетках различных видов	1	
				Отсутствие влияния	0	
Блок 5. Физиологические свойства (минимальное значение D_5 = 0.136363)						
1	Проникновение через барьеры организма	4	0,5	Выявлено	4	2
				Не выявлено	0	
2	Накопление в органах и тканях	2	1	Накапливается во многих органах и тканях	4	2,5
				Накапливается в отдельных органах и тканях	3	
				Накапливается в одном органе	2	
				Накопление не выявлено	1	
3	Усиление проницаемости барьеров организма для посторонних токсикантов	3	0,75	Доказано	4	3
				Не доказано	2	
4	Острая токсичность	1	2	1–2-й класс опасности <*>	4	2
				3-й класс опасности	2	
				4-й класс опасности	0	

Окончание табл. 21.4

1	2	3	4	5	6	7
5	Хроническая токсичность	1	2	Токсично для человека и теплокровных животных	4	2
				Токсично для холоднокровных позвоночных	3	
				Токсично для беспозвоночных	2	
				Токсично для растений и (или) прокариот	1	
				Токсичность не выявлена	0	
6	Специфические и отдаленные эффекты токсичности (канцерогенный, мутагенный, тератогенный, гонадотоксический, эмбриотоксический, иммунотоксический, аллергенный)	1	2	Выявлены	4	2,5
				Не выявлены	1	
Блок 6.Экологическая характеристика (минимальное значение D_6 = 0.065217)						
1	Массовость производства в мире	1	2	Крупнотоннажный промышленный продукт (> 1000 т)	4	2
				Массово выпускаемый продукт (1–1000 т)	3	
				Продукт, выпускаемый в ограниченных количествах (1 кг – 1 т)	2	
				Продукт, выпускаемый в малых количествах (менее 1 кг)	1	
				Продукт в настоящее время не производится	0	
2	Возможность экспонирования людей (категории населения)	1	2	Население в масштабе страны	4	2
				Потребители продукции	3	
				Персонал массового производства	2	
				Персонал в лабораторных масштабах	1	
				Экспонирование исключено	0	
3	Данные о накоплении в организмах	2	1	Сельскохозяйственные животные и культурные растения	4	2
				Массовые виды диких животных, дикорастущих растений и свободноживущих микроорганизмов	3	
				Малочисленные компоненты биоценоза, безразличные для хозяйственной деятельности	2	
				Растения и животные – вредители сельскохозяйственных культур	1	
				Накопление не выявлено	0	
4	Данные о накоплении в объектах внешней среды (почвы, грунтовые воды, донные отложения)	3	0.75	Данные имеются	4	3
				Данных не имеется	2	

<*> Класс опасности наноматериалов для однократного перорального, ингаляционного и перкутанного пути поступления устанавливают в соответствии с ГОСТ 12.1.007–76 при наличии в источниках соответствующих данных. При отсутствии таковых по умолчанию присваивается значение $R = 2$

21.6.2. ПРИМЕР ВЫЯВЛЕНИЯ НАНОМАТЕРИАЛОВ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩИХ ПОТЕНЦИАЛЬНУЮ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

Ниже представлен пример расчета потенциальной опасности однослойных углеродных нанотрубок для здоровья человека методом математического моделирования. Применительно к однослойным углеродным нанотрубкам ГОТ приобретает следующий вид (табл. 21.5).

Таблица 21.5

Данные для выявления потенциальной опасности для здоровья человека однослойных углеродных нанотрубок

№	Признаки	Ранг	φ_i	Оценка	Балл, R
1	2	3	4	5	6
Блок 1. Геометрические характеристики					
1	Минимальный размер частицы в одном из измерений	1	2	Преобладают частицы менее 5 нм	4
2	Формфактор (отношение максимального размера к минимальному)	1	2	Частицы крайне несферичны (формфактор > 100)	4
Блок 2. Физико-химические свойства					
1	Растворимость в воде	1	2	Нерастворимы	4
2	Растворимость в биологических жидкостях	2	1	Малорастворимы	2
3	Заряд	1	2	Положительный	4
4	Адсорбционная емкость	3	0,75	Неизвестно	3
5	Устойчивость к агрегации	3	0,75	Высокая	4
6	Гидрофобность	4	0,5	Гидрофобны	4
7	Адгезия к поверхностям	5	0,3125	Неизвестно	3
8	Способность генерировать свободные радикалы	2	1	Выявлена	4
Блок 3. Молекулярно-биологические свойства					
1	Взаимодействие с ДНК	1	2	Выявлено	4
2	Взаимодействие с белками	3	0,75	Неизвестно	2,5
3	Взаимодействие с мембранами	2	1	Выявлено	4
Блок 4. Цитологические свойства					
1	Способность к накоплению в клетках	2	1	Накапливается только в органеллах	3
2	Трансформирующая активность	1	2	Неизвестно	2
3	Влияние на протеомный и (или) метаболомный профиль	3	0,75	Выявлена	4
4	Токсичность для клеток	1	2	Вызывает летальные изменения в нормальных клетках	4

Окончание табл. 21.5

1	2	3	4	5	6
Блок 5. Физиологические свойства					
1	Проникновение через барьеры организма	4	0,5	Выявлено	4
2	Накопление в органах и тканях	2	1	Накапливается в отдельных органах и тканях	3
3	Усиление проницаемости барьеров организма для посторонних токсикантов	3	0,75	Неизвестно	3
4	Острая токсичность	1	2	1-й класс (чрезвычайно опасно) и 2-й класс (высокоопасно)	4
5	Хроническая токсичность	1	2	Токсично для человека и теплокровных животных	4
6	Специфические и отдаленные эффекты токсичности (канцерогенный, мутагенный, тератогенный, гонадотоксический, эмбриотоксический, иммунотоксический, аллергенный)	1	2	Неизвестно	2,5
Блок 6. Экологическая характеристика					
1	Массовость производства в мире	1	2	Массово выпускаемый продукт (1–1000 т)	3
2	Возможность экспонирования людей (категории населения)	1	2	Персонал массового производства	2
3	Данные о накоплении в организмах	2	1	Неизвестно	2
4	Данные о накоплении в объектах внешней среды (почвы, грунтовые воды, донные отложения)	3	0,75	Неизвестно	3

Частные опасности D_k по блокам 1–6 принимают значения:

Блок 1. $D_1 = (4 \times 2 + 4 \times 2) / (4 \times 2 + 4 \times 2) =$ **1,000**

Блок 2. $D_2 = (4 \times 2 + 2 \times 1 + 4 \times 2 + 3 \times 0{,}75 + 4 \times 0{,}75 + 4 \times 0{,}5 + 3 \times$
$\times 0{,}3125 + 4 \times 1) / (4 \times (2 + 1 + 2 + 0{,}75 + 0{,}75 + 0{,}5 + 0{,}3125 + 1)) =$ **0,908**

Блок 3. $D_3 = (4 \times 2 + 2{,}5 \times 0{,}75 + 4 \times 1) / (4 \times (2 + 0{,}75 + 1)) =$ **0,925**

Блок 4. $D_4 = (3 \times 1 + 2 \times 2 + 4 \times 0{,}75 + 4 \times 2) / (4 \times (1 + 2 + 0{,}75 + 2)) =$ **0,783**

Блок 5. $D_5 = (4 \times 0{,}5 + 3 \times 1 + 3 \times 0{,}75 + 4 \times 2 + 4 \times 2 + 2{,}5 \times 2) /$
$/ (4 \times (0{,}5 + 1 + 0{,}75 + 2 + 2 + 2)) =$ **0,856**

Блок 6. $D_6 = (3 \times 2 + 2 \times 2 + 2 \times 1 + 3 \times 0{,}75) / (4 \times (2 + 2 + 1 + 0{,}75)) =$ **0,616.**

Таким образом, значение опасности наноматериала составляет:

$$D = \sqrt{(1^2 + 0{,}908^2 + 0{,}925^2 + 0{,}783^2 + 0{,}856^2 + 0{,}619^2)} = 2{,}099.$$

При определении коэффициента неполноты (U) учитываем неопределенность ответа по признакам 4 и 7 в блоке 2, признаку 2 – в блоках 3 и 4, признакам 3 и 6 – в блоке 5 и признакам 3 и 4 – в блоке 6.

Соответственно:

U = (0,75 + 0,3125 + 0,75 + 2 + 0,75 + 2 + 1 + 0,75) / (2 + 2 + 2 + 1 + 2 + + 0,75 + 0,75 + 0,5 + 0,3125 + 1 + 2 + 0,75 + 1 + 1 + 2 + 0,75 + 2 + 0,5 + + 1 + 0,75 + 2 + 2 + 2 + 2 + 2 + 1 + 0,75) = 0,239.

Вывод. При сравнении результатов расчетов показателя опасности (D) и коэффициента неполноты (*U*) с данными табл. 21.2 и 21.3 заключаем, что однослойные углеродные нанотрубки обладают высокой степенью опасности, и данная оценка опасности достоверна.

21.6.3. АЛГОРИТМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ОПАСНОСТИ ПРОДУКЦИИ НАНОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЯ

Для определения уровня потенциальной опасности продукции наноматериалов для потребителя проводят расчет критерия потенциальной опасности продукции для потребителя (*P*) по формуле (21.4):

$$P = [K1 \wedge K2 \wedge (K3 \vee K4)] \cdot B \cdot D / D_{\max}, \qquad (21.4)$$

где $K1 - K4$ – ограничительные критерии; D[54] – критерий потенциальной опасности наноматериала, содержащегося в продукции; $D_{\max}$ = 2,449 – максимальное значение критерия опасности наноматериала; B – критерий, характеризующий степень близости продукции к человеку; $\vee$ – оператор дизъюнкции (*или*)[55]; $\wedge$ – оператор конъюнкции (*и*)[56].

21.6.3.1. ОГРАНИЧИТЕЛЬНЫЕ КРИТЕРИИ *K*1–*K*4[57]

На основании экспертизы данных, представленных производителем продукции наноиндустрии определяются значения ограничительных критериев $(K1 - K4)$.

Ограничительный критерий $K1$. Учитывается наличие любых нанообъектов независимо от их химической природы и формы. Значение ограничительного критерия $K1$:

$K1$ = 0, если наноматериалы в продукции отсутствуют;

$K1$ = 1, если наноматериалы в продукции присутствуют.

---

[54] Критерий D рассмотрен в разделе 21.4.1

[55] Оператор конъюнкции $\wedge$ (и) $0 \wedge 0 = 0$; $1 \wedge 0 = 0$; $0 \wedge 1 = 0$; $1 \wedge 1 = 1$.

[56] Оператор дизъюнкции $\vee$ (или) $0 \vee 0 = 0$; $1 \vee 0 = 1$; $0 \vee 1 = 1$; $1 \vee 1 = 1$.

[57] МР 1.2.0016-10 «Методика классифицирования нанотехнологий и продукции наноиндустрии по степени потенциальной опасности».

Ограничительный критерий $K2$. Определяется, является ли наноматериал, представленный в составе продукции, ***ансамблем индивидуальных*** (не связанных[58] или слабо связанных между собой) нанообъектов.

$K2 = 0$, если наноматериал ***не является*** системой не связанных или слабо связанных между собой и со структурными элементами продукции нанообъектов.

$K2 = 1$, если наноматериал ***является*** системой не связанных или слабо связанных между собой и со структурными элементами продукции нанообъектов.

Ограничительный критерий *К*3. Определяется возможность экспонирования потребителя продукции содержащимися в ней нанообъектами, в т.ч. наночастицами (при их наличии) ***в нормальных (соответствующих назначению продукции) условиях эксплуатации***. Соответственно этому устанавливается значение ограничительного критерия[59] $K3$.

$K3 = 0$, если экспонирование потребителя нанообъектами, в т.ч. наночастицами, при нормальных условиях эксплуатации продукции невозможно.

$K3 = 1$, если экспонирование потребителя нанообъектами, в т.ч. наночастицами, при нормальных условиях эксплуатации продукции возможно.

Ограничительный критерий $K4$. Определяется возможность экспонирования потребителя содержащимися в ней нанообъектами, в т.ч. наночастицами, или их производными ***в условиях воздействия на продукцию факторов внешней среды*** (термодеструкция, горение, плавление, криодеструкция, фотодеструкция, ветровая эрозия и т.д.).

Соответственно этому устанавливается значение ограничительного критерия[60] $K4$:

$K4 = 0$, если экспонирование потребителя нанообъектами (в т.ч. наночастицами) при воздействии на продукцию факторов внешней среды невозможно.

$K4 = 1$, если экспонирование потребителя нанообъектами (в т.ч. наночастицами) при воздействии на продукцию факторов внешней среды возможно.

---

[58] Степень связанности нанообъектов (включая наночастицы) в составе наноматериалов определяется на основании данных, представленных производителем (поставщиком) в соответствии со следующим критерием: если энергия связи отдельных нанообъектов (включая наночастицы), входящих в состав продукции, между собой и со структурными элементами продукции существенно меньше энергии, необходимой для полного уничтожения наноразмерной структуры этих объектов (путем сублимации, испарения, спекания, расплавления, химической трансформации и другого) с образованием нативных веществ, то нанообъекты считаются слабо связанными между собой и со структурными элементами продукции.

[59] При установлении значения ограничительного критерия К3 следует принимать во внимание: а) характер нормальных условий эксплуатации в соответствии с назначением продукции; б) структурные особенности продукции (материала, изделия), в частности, наличие корпусов и оболочек, изолирующих наноматериал от внешней среды.

[60] При установлении значения ограничительного критерия К4 следует принимать во внимание: а) устойчивость продукции к воздействию факторов внешней среды (воспламеняемость, горючесть, растворимость или диспергируемость в воде, подверженность криодеструкции, фотодеструкции, ветровой эрозии и т.д.); б) наличие в составе продукции наноматериалов, способных (или неспособных) приводить к образованию под воздействием факторов внешней среды золя (аэрозоля) наночастиц.

21.6.3.2. КРИТЕРИЙ В, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЙ СТЕПЕНЬ БЛИЗОСТИ ПРОДУКЦИИ НАНОМАТЕРИАЛОВ К ЧЕЛОВЕКУ[61]

Критерий *B* изменяется в пределах от 0,000 до 10,000 и показывает степень близости продукции в целом (а не только ее наноразмерного компонента) к человеку. Например, продукция, представляющая собой фармацевтический препарат для парентерального введения в организм человека, характеризуется В $\rightarrow$ 10,000, а продукция, представляющая собой технические устройства, автономно функционирующие в безлюдной зоне (например, оборудование для буровых или глубоководных работ, космическая техника), характеризуется В $\rightarrow$ 0,000. Оценку величины критерия *B* рекомендуется проводить путем опроса группы компетентных экспертов с математической обработкой данных опроса, вывода результирующего значения В и оценки согласованности мнения экспертов. При невозможности проведения экспертного опроса значение критерия *B* аппроксимируется интервалом на основе данных о назначении, предоставленных производителем (поставщиком) продукции наноиндустрии. Значения интервалов приведены в табл. 21.6.

Методика определения критерия *B* на основании данных экспертной оценки предусматривает формирование группы экспертов численностью не менее 10 человек. Эксперты должны иметь высшее образование и опыт работы в области нанотехнологий не менее 1 года. Эксперты, проводящие оценку критерия *B*, должны быть беспристрастными и не зависеть от каких-либо интересов, способных повлиять на результаты. При этом должно быть исключено воздействие на экспертов со стороны лиц или организаций, которые имеют непосредственную коммерческую заинтересованность в результатах проводимой оценки. Сотрудники, проводящие классифицирование, не участвуют в качестве экспертов, проводящих оценку критерия *B*.

Алгоритм оценки критерия *B***.** Пусть $B_1, B_2, \ldots, B_N$ – результаты субъективной оценки критерия *B* экспертами (*N*). Исходя из предположения о нормальном законе распределения значения критерия *B*, «истинное» значение критерия *B* – «математическое ожидание» аппроксимируют выборочным средним:

$$\overline{B} = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N} B_i. \qquad (21.5)$$

Для установления согласованности мнения экспертов рассчитывают квадрат выборочной дисперсии:

$$S^2 = \frac{1}{N-1}\sum_{i=1}^{N}(B_1 - \overline{B})^2, \qquad (21.6)$$

и доверительный интервал:

$$\delta = t_{N-1}^{(0.95)}\frac{\sqrt{S^2}}{N}, \qquad (21.7)$$

[61] МР 1.2.0016-10 «Методика классифицирования нанотехнологий и продукции наноиндустрии по степени потенциальной опасности».

где t – табличное значение t-критерия Стьюдента со степенью свободы $N–1$, отвечающее 95%-ной вероятности. В частности, для группы из 10 экспертов $t = 2{,}262$. Полученные мнения экспертов считаются хорошо согласованными, если:

$$\delta \le 0{,}05 \cdot \overline{B}.$$

Согласованность мнений экспертов считается удовлетворительной, если:

$$0{,}05 \cdot \overline{B} < \delta \le 0{,}1 \cdot \overline{B}.$$

При $\delta > 0{,}1 \cdot \overline{B}$ мнения экспертов считаются несогласованными и рекомендуется повторить опрос с другой группой экспертов.

Таблица 21.6

Интервалы критерия *B*, определяющего степень близости продукции наноиндустрии к человеку в зависимости от ее функционального назначения

Степень близости продукции к человеку в соответствии с функциональным назначением	Примеры продукции	Интервал значений B	
		min	max
Продукция не контактирует с потребителем	Продукция, изделия и оборудование для нефте- и газодобычи, химических производств, подводных работ, машиностроения, научных исследований, авиакосмическая техника, комплектующие машин и оборудования, не подлежащих демонтажу пользователем	0,000	3,300
Продукция опосредованно контактиру-ет с потребителем через объекты внеш-ней среды (воздух, воду, пищу)	Агропрепараты, средства управления погодой, средства очистки воды, абразивы, катализаторы, оборудование для фармацевтических и пищевых производств	3,301	6,700
Продукция прямо контактирует и/или воздействует на потребителя	Текстиль, упаковочные материалы, пищевые продукты, пищевые добавки, БАД к пище, средства гигиены и бытовой химии, добавки к ГСМ, парфюмерно-косметическая продукция, лекарства и вакцины	6,701	10,000

Подставим в формулу (21.4) значения параметров, полученных для примера с одностенными углеродными нанотрубками. Логические операции над ограничительными критериями $K1 - K4$ в квадратных скобках дают 1. На основании имеющихся данных[62], значение критерия B, характеризующего степень близости одностенных углеродных нанотрубок к человеку, в соответ-

[62] Сравнительные эксперименты по добавке одностенных углеродных нанотрубок (ОНТ) в пищу мышей показали отсутствие заметной реакции последних в случае нанотрубок с длиной порядка микрон. Тогда как использование укороченных ОНТ с длиной 200–500 нм приводило к «впиванию» нанотрубок-игл в стенки желудка. Исследователи отметили, что нанотрубки в чистом виде токсичны для человека и животных, и их длительное воздействие на организм сказывается негативно. По степени токсичности нанотрубок можно провести параллель с частым вдыханием асбестовых частиц, которые вызывают органические повреждения тканей.

ствие с табл. 21.1, примем равным 6,7. Значение опасности нанотрубок (см. раздел 21.4.2) составляет D = 2,099 при D_{max} = 2,499 (табл. 21.6). Таким образом, критерий потенциальной опасности для потребителя одностенных углеродных нанотрубок составляет:

$$P = [K1 \wedge K2 \wedge (K3 \vee K4)] \cdot B \cdot D / D_{max}$$

или

$$P = 1 \cdot 6,7 \cdot \left(2,099 / 2,499\right) = 5,742.$$

Классифицирование продукции наноиндустрии по уровню потенциальной опасности для потребителя проводится на основании рассчитанного критерия P в соответствии с табл. 21.7.

Таблица 21.7

Определение уровня потенциальной опасности продукции наноиндустрии для потребителя

Значение *P*	Результат классифицирования
0–4,530	Низкий уровень потенциальной опасности продукции для потребителя
4,531–7,260	Средний уровень потенциальной опасности продукции для потребителя
7,261–10,000	Высокий уровень потенциальной опасности продукции для потребителя

Таким образом, одностенные углеродные нанотрубки представляют собой средний уровень потенциальной опасности продукции для потребителя.

21.6.4. АЛГОРИТМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ОПАСНОСТИ НАНОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ РАБОТНИКОВ ПРЕДПРИЯТИЯ, ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ И ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

На основании экспертизы данных, представленных производителем (поставщиком) продукции, определяется наличие нанообъектов (в т.ч. наночастиц, нановолокон, нанопроволок, нанотрубок, нанопластин, нанопленок) в нанотехнологии (технологическом процессе производства продукции наноиндустрии). Нанообъекты могут выступать в роли исходного сырья, промежуточной продукции (полупродуктов, полуфабрикатов), компонентов (комплектующих) применяемого оборудования, вспомогательных материалов (адсорбентов, катализаторов и др.), готовой продукции.

Соответственно этому устанавливается значение ограничительного критерия $K'1$:

$K'1$ = 0, если нанообъекты в нанотехнологии отсутствуют.

$K'1$ = 1, если нанообъекты в нанотехнологии присутствуют.

На основании данных, представленных производителем продукции, определяется возможность образования наноразмерных аэрозолей веществ (в форме наночастиц, нановолокон, нанопроволок, нанотрубок, нанопластин) в ходе нанотехнологического процесса. Соответственно этому устанавливается значение ограничительного критерия $K'2$:

$K'2 = 0$, если образование наноразмерных аэрозолей в процессе производства исключено.

$K'2 = 1$, если образование наноразмерных аэрозолей в процессе производства происходит или не исключено.

На основании экспертизы данных, представленных производителем продукции, оценивается концентрация в воздухе рабочей зоны ***нативного вещества***, отвечающего наноматериалу, формирующему наноразмерный аэрозоль в воздухе производственного помещения. В соответствии с ГН 2.2.5.1313–03[63] определяется среднесменная ПДК или (при ее отсутствии) максимально разовая ПДК для ***нативного вещества***, соответствующего наноматериалу. Соответственно этому устанавливается значение ограничительного критерия $K'3$:

$K'3 = 0$, если концентрация нативного вещества в воздухе производственных помещений менее 0,1 ПДК.

$K'3 = 1$, если концентрация нативного вещества в воздухе производственных помещений более 0,1 ПДК.

Примечания.

1. Если в ГН 2.2.5.1313–03 значение ПДК для нативного вещества не определено, то по определению $K'3 = 0$.

2. Для аэрозолей наночастиц диоксида титана и углеродных нанотрубок при установлении $K'3$ вместо граничного значения 0,1 ПДК нативного вещества следует оперировать граничным критерием 1 ПДК этих веществ в соответствии с ГН 1.2.2633–10[64].

Установление критерия потенциальной опасности наноматериала, присутствующего в нанотехнологии (D), производится на основании данных, отобранных для проведения классифицирования источников в соответствии с МР 1.2.2522–09[65]. Оценку результата определения D и достоверности оценки (коэффициента неполноты U) проводят, как указано в разделе 21.4.1.

Расчет критерия потенциальной опасности нанотехнологии для работников предприятия, здоровья населения и окружающей среды (T) производится по формуле (21.8):

$$T = [K'1 \wedge K'2 \wedge K'3] \cdot D / D_{\max}, \qquad (21.8)$$

где $D_{\max} = 2{,}449$ – максимальное значение критерия опасности наноматериала.

Классифицирование нанотехнологии по уровню потенциальной опасности для работников предприятия, здоровья населения и окружающей среды проводится на основании рассчитанного критерия T в соответствии с табл. 21.8.

---

[63] ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны» с дополнениями ГН 2.2.5.1827-03, ГН 2.2.5.2100-06 ГН 2.2.5.2241-07, ГН 2.2.5.2439-09, ГН 2.2.5.2536-09, СанПиН 2.2.5.2730-10, ГН 2.2.5.2895-11.

[64] ГН 1.2.2633-10 «Гигиенические нормативы содержания приоритетных наноматериалов в объектах окружающей среды».

[65] МР 1.2.2522-09 «Выявление наноматериалов, представляющих потенциальную опасность для здоровья человека».

Таблица 21.8

Таблица для определения уровня потенциальной опасности нанотехнологии для работников предприятия, здоровья населения и окружающей среды

Значение *T*	Результат классифицирования
0,000–0,453	Низкий уровень потенциальной опасности нанотехнологии для работников предприятия, здоровья населения и окружающей среды
0,454–0,726	Средний уровень потенциальной опасности нанотехнологии для работников предприятия, здоровья населения и окружающей среды
0,727–1,000	Высокий уровень потенциальной опасности нанотехнологии для работников предприятия, здоровья населения и окружающей среды

21.7. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ОПАСНОСТИ ПРОДУКЦИИ НАНОИНДУСТРИИ И НАНОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА И ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ. СОСТАВЛЕНИЕ ЗАКЛЮЧЕНИЯ И РЕКОМЕНДАЦИЙ

С использованием результатов классифицирования формируются рекомендации, представленные в табл. 21.9.

Таблица 21.9

Данные для установления уровня потенциальной опасности продукции наноиндустрии и нанотехнологий и рекомендации по необходимости и объему требуемых дополнительных экспертиз (оценок)

Уровни потенциальной опасности продукции и нанотехнологий		Выводы и рекомендации
по значению *P*	по значению *T*	
1	2	3
Низкий уровень потенциальной опасности продукции для потребителя	Низкий уровень потенциальной опасности нанотехнологии для работников, здоровья населения и окружающей среды	Не требуется дополнительных оценок (экспертиз) безопасности продукции и технологий
Низкий уровень потенциальной опасности продукции для потребителя	Средний или высокий уровень потенциальной опасности нанотехнологии для работников, здоровья населения и окружающей среды	Рекомендуется проведение общетоксикологических оценок наноматериалов, на основе которых должны быть определены критические точки нанотехнологии, представляющие потенциальную опасность для работников, здоровья населения и окружающей среды, с целью их локализации и формирования мероприятий по снижению опасности на производстве

Окончание таблицы 21.9

1	2	3
Средний уровень потенциальной опасности продукции для потребителя	Низкий уровень потенциальной опасности нанотехнологии для работников, здоровья населения и окружающей среды	Рекомендуется проведение выборочных токсиколого-гигиенических оценок продукции и наноматериалов, содержащихся в продукции, на основании которой должны быть сформированы мероприятия по снижению рисков продукции для потребителя (в т.ч. информирование потребителей о новых свойствах и особых правилах обращения с продукцией (хранение, утилизация), маркировка нанопродукции)
Средний уровень потенциальной опасности продукции для потребителя	Средний или высокий уровень потенциальной опасности нанотехнологии для работников, здоровья населения и окружающей среды	Рекомендуется проведение выборочных токсиколого-гигиенических оценок продукции и наноматериалов, содержащихся в продукции и присутствующих в нанотехнологии, на основании которой должны быть: сформированы мероприятия по снижению рисков продукции для потребителя (в т.ч. информирование потребителей о новых свойствах и особых правилах обращения с продукцией (хранение, утилизация), маркировка нанопродукции); определены критические контрольные точки нанотехнологии, представляющие потенциальную опасность для работников, здоровья населения и окружающей среды, с целью их локализации и формирования мероприятий по обеспечению безопасных условий труда на производстве
Высокий уровень потенциальной опасности продукции для потребителя	Низкий уровень потенциальной опасности нанотехнологии для работников, здоровья населения и окружающей среды	Рекомендуется проведение полного комплекса токсиколого-гигиенических и специальных исследований продукции и наноматериалов, содержащихся в продукции. На основании результатов исследований должно быть принято решение о формировании мероприятий по снижению рисков, возникающих для потребителей продукции наноиндустрии
Высокий уровень потенциальной опасности продукции для потребителя	Средний или высокий уровень потенциальной опасности нанотехнологии для работников, здоровья населения и окружающей среды	Рекомендуется проведение полного комплекса токсиколого-гигиенических и специальных исследований продукции и наноматериалов, содержащихся в продукции и присутствующих в нанотехнологии. На основании результатов исследований должно быть: принято решение о формировании мероприятий по снижению рисков, возникающих для потребителей продукции наноиндустрии; определены критические контрольные точки нанотехнологии, представляющие потенциальную опасность для работников, здоровья населения и окружающей среды, с целью их локализации и формирования мероприятий по обеспечению безопасных условий труда на производстве

В настоящее время установлены гигиенические нормативы содержания некоторых наноматериалов в объектах проиводственной и окружающей среды (табл. 21.10).

Таблица 21.10

Гигиенические нормативы содержания приоритетных наноматериалов в объектах окружающей среды

№	Наименование наноматериала	Диапазон размеров частиц, нм (10 – 90 процентиль)	ОБУВ в воздухе рабочей зоны, среднесменная, мг/м^3	ОДУ в воде водоемов, мг/дм^3	ОДУ в питьевой воде, мг/дм^3
1	Наночастицы диоксида титана	5–50	0,1	–	–
2	Наночастицы серебра	5–50	–	0,05	0,05
3	Одностенные углеродные нанотрубки	0,4–2,8 нм диаметр; более 5000 нм длина	0,01 волокно в 1 см^3 при длине волокна > 5 мкм	–	–

21.8. ПРИЛОЖЕНИЕ

В данном разделе приводится аннотированный перечень методик, рекомендованных для проведения медико-биологической оценки безопасности наночастиц и наноматериалов искусственного происхождения на основе тестов на культурах клеток, семенах высших растений и лабораторных животных, а также при проведении тестирования безопасности наночастиц и наноматериалов искусственного происхождения на модельных биологических объектах, включая культуры симбиотических, условно патогенных и патогенных микроорганизмов, культуры клеток различных тканей высших животных, гидробионты (ракообразные, рыбы), организмы лабораторных животных.

21.8.1. МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ НАНОМАТЕРИАЛОВ НА КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ВЫСШИХ ЖИВОТНЫХ, СЕМЕНАХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ[66]

Оценка цитотоксичности с помощью метода МТТ. Принцип метода МТТ основан на способности фермента сукцинатдегидрогеназы митохондриальной мембраны клеток млекопитающих восстанавливать желтую соль 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ) до кристаллов формазана фиолетового цвета, накапливающихся в результате этой реакции в цитоплазме живых клеток. Таким образом, по интенсивности накопления кристаллов формазана в цитоплазме можно судить об уровне митохондриального дыхания клетки, что является показателем ее жизнеспособности. Количество образуемого формазана в клеточном монослое пропорционально имеющемуся количеству живых клеток. Безопасность наноматериалов оценивают по величине ингибирующего эффекта наночастиц на пролиферацию и жизнеспособность эукариотических клеток-мишеней.

[66] МУ 1.2. 2635-10 «Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов»

Оценка цитотоксичности путем определения активности лактатдегидрогеназы. Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) является стабильным цитозольным ферментом. При повреждении клеточной мембраны (клеточный лизис, или некроз) ЛДГ высвобождается во внеклеточное пространство. Таким образом, по активности ЛДГ в бесклеточном супернатанте можно судить о количестве погибших клеток. Активность ЛДГ определяют колориметрическим методом с использованием набора CytoTox-96 фирмы «Промега». Принцип метода определения активности ЛДГ основан на ее способности восстанавливать лактат в пируват, превращая при этом НАД$^+$ в НАДН+Н$^+$. Активность ЛДГ определяется в два этапа. На первом этапе ЛДГ катализирует превращение лактата в пируват и восстановление НАД$^+$ в НАДН+Н$^+$. На втором этапе фермент диафораза, используя образовавшийся на первом этапе НАДН+Н$^+$, катализирует восстановление желтой соли тетразолия в красный формазан. Таким образом, по интенсивности окраски можно судить об активности внеклеточной ЛДГ. Негативное воздействие наноматериалов оценивают по величине их воздействия на целостность мембран клеток, измеряемой по активности, проявляющейся во внеклеточной среде ЛДГ..

Оценка цитотоксичности путем определения концентрации АТФ в лейкоцитах. АТФ является маркером и необходимым компонентом для поддержания жизнеспособности клеток; ее наличие необходимо для всех метаболических процессов внутри клетки. Уровень АТФ строго регулируется в здоровых клетках и резко уменьшается, когда клетки погибают. Например, быстрое уменьшение концентрации АТФ происходит в случае апоптоза или некроза клеток, поэтому определение концентрации АТФ является индикатором цитостатического или пролиферативного воздействия на клетку. Для проведения исследования используют тест-набор ATP Determination Kit (A22066), Invitrogen или аналог.

Определение уровня активных форм кислорода по уровню восстановления нитросинего тетрозолия в НСТ-тесте. Для оценки респираторного взрыва в макрофагах наиболее простым и в то же время очень надежным является НСТ-тест. Принцип метода заключается в способности супероксидных радикалов, образующихся при активации макрофагов, восстанавливать нитросиний тетразолий до образования нерастворимых окрашенных зерен диформазана. Таким образом, по интенсивности накопления кристаллов диформазана в цитоплазме можно судить об уровне синтеза супероксида, что является показателем функциональной активности фагоцитов. Безопасность наноматериалов оценивают по величине их ингибирующего эффекта на синтез активных форм кислорода. В качестве клеток-мишеней используют мышиные макрофагоподобные клетки J774.1A, первичные мышиные перитонеальные и альвеолярные макрофаги, нейтрофилы периферической крови человека.

Определение спонтанной и индуцированной хемилюминесценции. «Респираторный взрыв» в фагоцитах может быть оценен также путём измерения спонтанной и индуцированной активаторами (опсонизированным зимозаном или ФМА) хемилюминесценции. Принцип метода основан на способности кислородных радикалов вызывать хемилюминесценцию – слабое свечение, которое существенно усиливается люминофорами – люминолом, люцигенином и др. Первый преимущественно позволяет идентифицировать обра-

зование перекиси водорода и гипохлорной кислоты, второй – супероксидного радикала. При взаимодействии с активными формами кислорода люминофоры переходят в возбужденное состояние и при возвращении в исходное испускают квант света, регистрируемый с помощью люминометра. В качестве клеток-мишеней используют мышиные макрофагоподобные клетки J774.1A, первичные мышиные перитонеальные и альвеолярные макрофаги, нейтрофилы периферической крови человека.

Определение активности ферментов, участвующих в «респираторном взрыве». ***Определение активности миелопероксидазы в фагоцитирующих клетках.*** Принцип метода основан на способности фермента фагоцитов миелопероксидазы разлагать перекись водорода с образованием кислородных радикалов. Система миелопероксидазы является одной из самых мощных бактерицидных систем фагоцитирующей клетки. При участии миелопероксидазы происходит образование таких бактерицидных агентов, как перекись водорода, гипохлорная кислота и другие. Определение активности миелопероксидазы в фагоцитирующих клетках является одним из наиболее существенных тестов, позволяющих судить о бактерицидной активности фагоцитов. В качестве клеток-мишеней используют мышиные макрофагоподобные клетки J774.1A, первичные мышиные перитонеальные и альвеолярные макрофаги, нейтрофилы периферической крови человека

Определение активности кислой фосфатазы в фагоцитирующих клетках. Принцип метода основан на способности фермента кислой фосфатазы гидролизовать субстрат паранитрофенилфосфат с образованием цветного продукта. Кислая фосфатаза – один из ключевых ферментов бактерицидности фагоцитирующей клетки, содержащийся в азурофильных гранулах. Активность фермента определяет способность клетки к перевариванию и экстрацеллюлярному киллингу бактериальных агентов.

Оценка влияния наноматериалов на ФМА-индуцированную дифференцировку моноцитарных клеточных культур в макрофаги. Метод основан на способности суспензионных моноцитарных клеточных культур под влиянием некоторых агентов (например, активатора протеинкиназы С ФМА) дифференцироваться в зрелые макрофагоподобные клетки, приобретая при этом способность к адгезии к абиотическим поверхностям (стекло, пластик), как и все зрелые макрофаги. Таким образом, по количеству адгезированных клеток судят о глубине клеточной дифференцировки. Количество адгезированных клеток оценивается методом МТТ. Количество фиолетового формазана в адгезированном клеточном монослое пропорционально количеству дифференцировавшихся клеток. Безопасность наноматериалов оценивают по величине негативного эффекта наночастиц на дифференцировку клеток-мишеней. В качестве модельной системы используют перевиваемые суспензионные культуры человеческих моноцитарных клеток THP-1 и HL-60.

Оценка влияния наноматериалов на продукцию макрофагами фактора некроза опухоли-альфа. Одним из важных звеньев функциональной активности фагоцитирующих клеток является способность к передаче клеточных сигналов, приводящих к синтезу провоспалительных цитокинов, основным из которых является фактор некроза опухоли-альфа (ФНО-α). Уровень

синтеза ФНО-α определяют методом ИФА и с помощью ФНО-чувствительной клеточной линии мышиных фибробластов L929.

Определение продукции фактора некроза опухоли (ФНО-α) с помощью ФНО-чувствительной клеточной линии L929. Принцип метода основан на чувствительности мышиных фибробластов L929 к токсическому действию ФНО–α в присутствии актиномицина D. В качестве модельной клеточной системы для синтеза ФНО-α используют культуру мышиных макрофагоподобных клеток J774.1A, в качестве клеток-мишеней – культуру мышиных фибробластов L929.

Определение продукции фактора некроза опухоли (ФНО-α) методом ИФА. Принцип метода основан на выявлении комплекса антиген–антитело с помощью ферментативной реакции окисления субстрата (ОФД). Степень окисления субстрата оценивается колориметрически, по интенсивности окраски судят о количестве ФНО-α в клеточном супернатанте. В качестве модельной клеточной системы для синтеза ФНО-α используют культуру мышиных макрофагоподобных клеток J774.1A.

Оценка иммунотропного действия наноматериалов. Целью данной серии тестов является получение информации о воздействии наноматериалов на функциональную активность иммунокомпетентных клеток человека и животных, в частности лимфоцитов. Изучение иммунотропного действия наноматериалов проводят с помощью реакции бласттрансформации лимфоцитов, оценки синтеза лимфоцитами интерферона-гамма, оценки продукции иммуноглобулина Е**.**

Оценка влияния наноматериалов на поликлональную активацию лимфоцитов в реакции бласттрансформации лимфоцитов. Интегральным тестом для оценки функционального состояния лимфоцитов является реакция спонтанной и индуцированной бласттрансформации лимфоцитов. Принцип метода основан на способности лимфоцитов к моно- и поликлональной активации (образованию бластных форм клеток) и пролиферации под действием многих неспецифических (митогенов) и специфических (антигенов) стимуляторов. Уровень поликлональной активации лимфоцитов оценивается радиометрически по интенсивности включения в клетки [^{3}H]-тимидина. В качестве источника лимфоцитов в реакции бласттрансформации используют взвесь мононуклеаров (лимфоциты и моноциты) периферической крови человека либо спленоциты экспериментальных животных. Лимфоциты культивируют в ППС на основе РПМИ–1640. В качестве митогенов для неспецифической активации Т-лимфоцитов используют конканавалин А (Кон А) в конечной концентрации 5 мкг/см^3, для активации В-лимфоцитов – ЛПС в конечной концентрации 50 мкг/см^3. Для оценки негативного действия наноматериалов на фоне действия митогенов используют субоптимальную концентрацию митогенов. Субоптимальную дозу митогена определяют в предварительных экспериментах**.**

Оценка влияния наноматериалов на продукцию лимфоцитами интерферона-гамма (ИНФ-γ) методом ИФА. Принцип метода основан на выявлении комплекса антиген-антитело с помощью ферментативной реакции окисления субстрата (ОФД). Степень окисления оценивается колориметрически, по интенсивности окраски судят о количестве ИНФ-γ в клеточном суперна-

танте. В качестве модельной клеточной системы для синтеза ИНФ-γ используют взвесь мононуклеаров (лимфоциты и моноциты) человека либо спленоциты экспериментальных животных. Получение обоих видов клеток проводят, как описано в разделе 4.7.1. Клетки культивируют в ППС на основе РПМИ-1640. В качестве митогенов для активации синтеза ИНФ-γ лимфоцитами используют ФМА в конечной концентрации 100 нг/см^3 вместе с иономицином в конечной концентрации 1 мкг/см^3. Для оценки действия наноматериалов используют субоптимальную концентрацию активаторов, которую определяют в предварительном эксперименте. Для предварительной оценки субоптимальных концентраций активаторов определяют концентрацию, при которой отсутствует окисление субстрата (ОФД), что оценивается колориметрически.

Оценка безопасности наноматериалов методом проточной цитофлюориметрии по качественным и количественным изменениям в клетках высших животных. Для оценки безопасности наноматериалов используют методы проточной цитофлюориметрии, которые основаны на считывании флюоресцентных сигналов с каждой клетки биологического образца, меченной моноклональными антителами к специфическим рецепторам или флюорохромными красителями. Методами проточной цитофлюориметрии изучаются клетки иммунной системы, которые являются наиболее чувствительными к повреждающему действию наноматериалов или иных факторов.

Определение содержания Т- и В-лимфоцитов и соотношения Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов. Центральное место в иммунных реакциях организма принадлежит лимфоцитам. Количественное нарушение субпопуляций лимфоцитов приводит к развитию иммунодефицитных состояний. В ходе медико-биологического тестирования наноматериалов производится определение абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов, обеспечивающих развитие иммунного ответа, а также субпопуляций регуляторных Т-лимфоцитов (хелперов и цитотоксических лимфоцитов) после обработки животного наноматериалом. Выявление субпопуляций лимфоцитов основано на способности специфических моноклональных антител связываться с антигенными детерминантами, которые экспрессированы лейкоцитами. Анализируется флуоресценция ограниченной популяции клеток, чтобы отличить положительно окрашенные клетки от неокрашенных. Результаты выражают в виде доли флуоресцирующих клеток в процентах от общего числа клеток. Например, определяют количество Т-лимфоцитов (CD3+, т.е. несущих на своей поверхности CD3-рецепторы), В-лимфоцитов (CD19+), Т-хелперов (CD3+ CD4+) и цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+).

Выявление маркера ранней активации лимфоцитов. Для определения влияния наноматериалов на функциональное состояние лимфоцитов анализируют способность Т-клеток активироваться в ответ на стимуляцию *in vitro* фитогемагглютинином (ФГА), а В-клеток – в ответ на стимуляцию липополисахаридом (ЛПС). Один из признаков активации – появление антигена ранней активации CD69 на поверхности лимфоцита. Принцип метода заключается в подсчете CD3+ клеток, экспрессирующих антиген ранней активации CD69 в ответ на стимуляцию *in vitro* ФГА и в учете CD19+CD69+ клеток в ответ на стимуляцию *in vitro* ЛПС. Сравнивают количество митоген-активированных

CD69-позитивных Т- и В-лимфоцитов, выделенных из групп контрольных мышей и опытных групп животных, обработанных анализируемым наноматериалом. Низкий уровень экспрессии CD69 рецептора на поверхности Т- и В-лимфоцитов, стимулированных соответствующим митогеном, свидетельствует о снижении функциональной активности лимфоцитов под воздействием наноматериала. Высокий уровень спонтанной активации клеток (увеличение CD69-позитивных Т- и В-лимфоцитов у мышей, обработанных наноматериалом), свидетельствует о гиперактивации клеток иммунной системы.

Оценка апоптотической и пролиферативной активности лейкоцитов. Апоптоз лимфоцитов – важнейший механизм иммунорегуляции от момента созревания и дифференцировки иммунокомпетентных клеток до этапа реализации механизмов врожденного и адаптивного иммунитета. Отсутствие адекватного апоптоза сопровождает лимфопролиферативную патологию. Усиление апоптоза лимфоцитов является причиной формирования иммунологической недостаточности. При проведении тестирования определяют процент апоптотических клеток в селезенке мышей после обработки их наноматериалом.

Оценка цитотоксического действия наноматериалов на лейкоциты периферической крови человека. Оценку цитотоксичности наноматериалов *in vitro* в методе проточной цитофлуориметрии проводят с использованием красителя 7-AAD (7-амино-актиномицин D). 7-AAD может использоваться вместе с флюорохромами ФИТЦ (флюоресцеин изотиоционат) и PE (фикоэритрин). Одновременное окрашивание клеток CD45 ФИТЦ (маркер всех кроветворных клеток лейкоцитов) и 7-AAD позволяет точно оценить количество жизнеспособных клеток.

Определение цитолитической активности лимфоцитов. Литическая активность естественных киллеров – один из показателей иммунного статуса. Естественные киллеры – это несенсибилизированные большие гранулярные лимфоциты, осуществляющие независимый от антител и комплемента лизис широкого спектра клеток-мишеней – опухолевых, зараженных вирусами, поврежденных клеток. Естественные киллеры играют важную роль в иммунном надзоре за состоянием клеточной пролиферации и цитодифференцировки. В качестве клеток-эффекторов (КЭ) используют спленоциты линейных мышей Balb/c, выделенные из групп контрольных мышей и групп, обработанных анализируемым наноматериалом. Для этого выделяют клетки селезенки, лизируют эритроциты, готовят клеточную суспензию $1{,}5 \times 10^5$ кл/см^3. В качестве клеток-мишеней (КМ) используют эмбриональные мышиные фибробласты линии Balb/3T3 (линия 3T3) или клетки эритробластоза человека – К-562 ($1{,}3 \times 10^4$ кл/см^3), подготовленные к анализу.

Оценка фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов животных. Фагоцитоз является одной из важнейших реакций, обеспечивающих как естественную резистентность организма (неспецифический иммунитет), так и представление антигена, необходимое для развития специфического иммунного ответа. Нарушения на различных этапах фагоцитоза приводят к развитию многочисленных патологических состояний. Анализ фагоцитарной активности можно проводить, используя коммерческий набор Phagotest,

BD или с применением приготовленных ФИТЦ-меченых бактерий (например, *E. coli*-ФИТЦ).

Оценка безопасности наноматериалов с использованием в качестве тест-объекта семян высших растений. Принцип биотестирования на проростках высших растений. Метод тестирования безопасности наноматериалов основан на оценке различных реакций проростков высших растений на изменение внешних факторов, а именно:

- изменение морфологических признаков;
- изменение химического состава;
- появление аномалий в развитии;
- снижение всхожести;
- физиологические сдвиги;
- степень развития грибковых заболеваний и т.п.

Суть биотестирования состоит в определении указанных реакций и в последующем анализе полученных данных. Данные, полученные на проростках растений, переносятся на иные живые объекты не прямолинейно, а через пропорциональное изменение показателей жизненности.

Метод биотестирования позволяет проводить анализ наноматериалов:

- предварительно растворенных в увлажняющей субстрат воде;
- нанесенных на поверхность семян.

В результате тестирования становится возможным подбор безопасной концентрации наноматериала, не оказывающей отрицательного действия; определение степени токсичного действия того или иного наноматериала на тест-объекты.

Оценка безопасности наноматериалов с использованием интегральных тестов на лабораторных животных. ***Методика измерения легочной функции in vivo – электроплетизмография.*** Тест плетизмографии позволяет оценивать как аллерген-специфичную, так и неаллергическую бронхоконстрикцию у интактных животных. Этот тест предпочтителен для быстрого и повторного скрининга дыхательной функции. Принцип метода заключается в регистрации изменения давления при дыхании животного в ограниченном объёме окружающей его среды. Для анализа влияния наноматериала на легочную функцию следует использовать одну из модификаций этого метода – плетизмографию всего тела. При этом животное целиком помещают в герметичную камеру, снабженную датчиками давления, и анализируют суммарный поток воздуха от носа и грудной клетки, которые приблизительно равны и разнонаправлены.

Тестирование безопасности наноматериалов на инвазивной модели тромбогенеза. Данный метод позволяет оценить влияние наноматериалов на процесс тромбообразования, изменение его скорости и величину тромба. Лабораторному животному внутривенно вводят краситель, затем хирургически выделяют правую бедренную вену и вызывают ее мягкое эндотелиальное повреждение. После этого наблюдают образование/исчезновение тромба под микроскопом.

Методика электроплетизмографического измерения артериального давления в хвостовой артерии. Электроплетизмографическое измерение артериального давления (АД) в хвостовой артерии (*tail-cuff*) основано на том

же принципе, что и измерение артериального давления у человека по способу Рива-Роччи. Просвет крупной артерии пережимается манжетой и во время постепенного снижения давления воздуха в манжете отмечается уровень давления, при котором кровь начинает проталкиваться через сдавленную область. Этот уровень соответствует систолическому АД. У человека уровень систолического АД детектируется аускультативно (по появлению тонов Коротко-ва). У крыс наиболее часто используют специальные устройства, регистрирующие изменения окружности хвоста при поступлении порций крови. Важным достоинством данного метода служит его неинвазивность: он позволяет многократно измерять АД у одного и того же животного в ходе длительного хронического эксперимента.

Методика регистрации АД с использованием имплантируемых катетеров. Методика регистрации артериального давления (АД) через внутриартериальный катетер («прямой» метод) позволяет измерять АД и частоту сердечных сокращений (ЧСС) непрерывно, что дает возможность вычислять величины, характеризующие вариабельность параметров гемодинамики. Этот метод практически не вызывает стрессирования животных в условиях адекватной экспериментальной обстановки: измерения необходимо проводить в тихом и затемненном помещении. После завершения подготовительных процедур следует адаптировать крысу к условиям эксперимента. Модификацией метода является методика оценки влияния наноматериалов на изменения артериального давления и частоты сердцебиения при стрессе. Очень информативна модель, в которой стресс возникает под воздействием струи воздуха (*air-jet stress*). В этой модели у крыс возникает ориентировочная реакция, сопровождающаяся умеренным повышением АД и ЧСС, а также характерным перераспределением кровотока между органами. Другой модификацией метода является методика тестирования чувствительности кардиохронотропного компонента барорефлекса. При определении сердечного хронотропного компонента барорефлекса регистрируют изменения частоты сердцебиений, возникающие при введении фармакологических веществ, вызывающих умеренное повышение или снижение артериального давления. В качестве тест–препаратов, как правило, используют фенилэфрин, который суживает кровеносные сосуды, взаимодействуя с α_1-адренорецепторами, и нитропруссид натрия, который является донором оксида азота, расслабляющего гладкую мускулатуру сосудов. Эти вещества вызывают кратковременные изменения артериального давления. В дозах, используемых для тестирования чувствительности барорефлекса, нитропруссид натрия и фенилэфрин не оказывают прямого действия на сердце, так что наблюдаемые изменения частоты сердцебиений имеют почти исключительно нейрогенную рефлекторную природу. После хирургической денервации барорецепторов, блокирования проведения возбуждения в ганглиях автономной нервной системы или при блокаде симпатических и парасимпатических влияний на сердце изменения давления в ответ на введение тест–препаратов не сопровождаются изменениями сердечного ритма.

Методика регистрации ЭКГ у бодрствующих крыс в покое и при стрессирующем воздействии. Электрокардиография – методика регистрации и исследования электрических полей, образующихся при работе сердца. Пря-

мым результатом электрокардиографии является получение электрокардиограммы (ЭКГ) – графического представления разности потенциалов, возникающих в результате работы сердца и проводящихся на поверхность тела. На ЭКГ отражается усреднение всех векторов потенциалов действия, возникающих в определённый момент работы сердца. Регистрация ЭКГ может проводиться у бодрствующих крыс в покое и при стрессирующем воздействии с последующим вычислением средней длительности ПИ и показателей вариабельности сердечного ритма с использованием вэйвлет-анализа. Для создания модельных условий стресса на крысу воздействуют струёй воздуха (*air-jet stress*), при которой у животных возникает ориентировочная реакция, сопровождающаяся умеренным повышением АД и ЧСС, а также характерным перераспределением кровотока между органами.

Тестирование безопасности наноматериалов на основе определения гематологических показателей лабораторных животных. ***Определение кинетики агрегации и дезагрегации эритроцитов.*** Метод основан на том, что интенсивность обратного светорассеяния (I) пропорциональна количеству центров рассеяния. По мере агрегации эритроцитов (объединения их в характерные структуры, называемые «монетными столбиками»), количество центров рассеяния уменьшается и, соответственно, значение I снижается. В случае, когда агрегации эритроцитов в суспензии не происходит (количество центров рассеяния максимально), I принимает максимальное значение. Таким образом, данный метод позволяет оценивать усредненную динамику спонтанной агрегации – дезагрегации эритроцитов. Оценка деформационных свойств эритроцитов и вязкости крови. Оценку деформационных свойств отдельных эритроцитов проводят методом эктацитометрии. При этом на сильно разбавленную суспензию эритроцитов падает лазерный луч, создающий дифракционную картину на отдельных клетках. Дифракционная картина соответствует контурам эритроцита, которые по мере пошагового возрастания скорости сдвига приобретают вид все более уплощающегося овала. Изменение соотношения длины и ширины овала с изменением скорости сдвига позволяет оценить способность клеток к деформации в сдвиговом потоке. В отличие от метода втягивания мембраны эритроцита в микропипетку, метод эктацитометрии позволяет судить о деформируемости, связанной не только с мембраной, но и с внутренним содержимым эритроцита. В отличие от метода фильтрации клеток через узкие (для человека – через 5-микронные) отверстия, метод эктацитометрии позволяет избегать неточностей, связанных с особенностями фильтрационных измерений (закупоркой отверстий) и с математической обработкой данных. Вязкость крови в целом оценивают на основании вышеописанных измерений гидродинамической прочности эритроциторных агрегатов. Параметр, характеризующий эффективную вязкость крови (k_1) находят на основании параметров, отражающих размер агрегатов эритроцитов и их прочности в сдвиговом потоке. Так как, в соответствии с формулой Сиско, характерный размер агрегатов эритроцитов пропорционален показателю вязкости крови, наблюдений за кинетикой распада эритроцитарных агрегатов достаточно для оценки эффективной вязкости крови (k_1). Оценки вязкости крови с помощью параметра k_1 хорошо согласуются с оценками, получаемыми с по-

мощью классических вискозиметрических измерений. Таким образом, использование параметра k_1 позволяет избежать дополнительного тестирования образцов крови в вискозиметре, существенно облегчая экспериментальную процедуру комплексного гемореологического обследования.

Оценка безопасности наноматериалов по интегральным показателям системы детоксикации ксенобиотиков. Метод гексеналовой пробы. По продолжительности сна мышей и крыс после внутрибрюшинного введения гексеналового наркоза можно оценить скорость метаболизма гексенала, осуществляемого цитохромом Р-450-зависимой монооксигеназной системой гепатоцитов, которая характеризует состояние антитоксической функции печени.

Метод пробы с бромсульфалеином. Бромсульфалеиновая проба относится к числу наиболее информативных и чувствительных методов исследования поглотительно-выделительной функции печени. Скорость элиминации бромсульфалеина (БСФ) (в виде конъюгатов с цистеином и глутатионом) является показателем состояния экскреторной и антитоксической функции печени. БСФ-проба становится положительной при любых поражениях паренхимы органа (острые и хронические гепатиты, жировой гепатоз, цирроз печени, доброкачественная гипербилирубинемия и др.) даже на самых ранних стадиях развития заболевания и хорошо коррелирует с тяжестью патологического процесса.

Оценка безопасности наноматериалов по интенсивности местных воспалительных реакций. Методики накожных аппликаций и конъюнктивальной пробы. Методы позволяют оценить местное раздражающее и аллергизирующее действие наноматериала.

Тестирование безопасности наноматериалов по поведенческим реакциям животных. Методика теста «открытое поле». «Открытое поле» – классическая модель исследования поведения, основанная на конфликте двух мотиваций – инстинктивной тенденции к исследованию нового окружения и тенденции минимизировать возможную опасность со стороны такового. Тест «открытое поле» является информативной методикой, позволяющей адекватно оценивать нейротропные эффекты повреждающих факторов окружающей среды. В этом тесте оцениваются двигательная и ориентировочно-исследовательская активность. Снижение общей подвижности животных в данном тесте является следствием повышения уровня их стрессированности, поскольку крысы реагируют замиранием на новые, потенциально опасные стимулы. В тесте «открытое поле» потенциально опасная ситуация имитируется помещением животного в камеру, которая значительно больше, чем клетка, в которой живет крыса. Тестирование можно проводить либо при ярком свете (в стерессогенной обстановке), либо при свете красной лампы. В последнем случае уровень стрессированности животных меньше.

Методика теста «приподнятый крестообразный лабиринт». Тест «приподнятый крестообразный лабиринт» является информативной методикой, позволяющей адекватно оценивать нейротропные эффекты повреждающих факторов окружающей среды, и позиционируется как одна из наиболее чувствительных моделей для исследования тревожности животного. В этом

тесте оценивают: двигательную активность, скорость ориентировочных реакций, степень выраженности эмоциональной реакции страха и тревоги.

Методика условного рефлекса пассивного избегания. Методика условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) является базисной моделью для оценки влияния токсических веществ на формирование и воспроизведение памятного следа в норме и в условиях амнезии. Основные преимущества – быстрота выработки рефлекса (обучение с одной пробы) и возможность дифференцированно воздействовать на различные фазы памяти.

Тестирование безопасности наноматериалов на основе определения физической выносливости животных. Метод истощающего плавания. Среди методик изучения физической выносливости организма при работе с животными наиболее широко распространены методики истощающих физических нагрузок либо с помощью бега на тредбане до отказа, либо в тестах истощающего острого плавания. Важно, что по сравнению с методиками истощающего бега, методики истощающего плавания для сухопутных животных, к которым относятся крысы, являются тестированием физической выносливости в условиях стресса, т.е. в условиях, позволяющих максимально проявить незначительные нарушения функционирования органов и систем (стрессорные и гипоксические воздействия различной природы, при нарушениях функционирования ЦНС и в других случаях). Именно поэтому для оценки действия малотоксичных или инертных препаратов, к которым можно отнести и значительное количество наноматериалов, был выбран способ тестирования физической выносливости с помощью методики истощающего плавания. Высокая чувствительность, воспроизводимость и относительная простота исполнения методики «истощающего плавания» при измерении выносливости организма являются основой введения ее в комплекс методик физиологического скрининга для оценки влияния наноматериалов на жизненно важные системы организма.

Методика динамометрического измерения произвольной силы скелетных мышц передних конечностей была разработана для тестирования эффектов повреждающих токсических воздействий и обеспечивает комплексную оценку нейромоторной функции. Этим обусловлена ее информативность при тестировании изменений физической работоспособности вследствие токсического воздействия наноматериалов. Методика основана на безусловной реакции животных цепляться за единственно доступную опору и удерживаться на ней с максимальным усилием. С помощью данного теста можно объективно оценивать произвольное усилие, которое способны развивать животные. Методика входит в перечень методов, рекомендуемых национальной токсикологической программой США для оценки нейротропных эффектов различных повреждающих воздействий (The neurobehavioral test battery). Под влиянием психотропных препаратов (фенобарбитала и хлордиазепоксида – соединения диазепинового ряда) наблюдается заметное снижение силы мышц передних конечностей, что свидетельствует о том, что данная методика является перспективным подходом для оценки нейромоторных эффектов психотропных фармакологических агентов, а также нейротропных воздействий окружающей среды. Величина регистрируемой произвольной силы зависит многих факторов. Величина развиваемого усилия зависит от функционирования центральных механизмов управления движением, в том числе структур

головного мозга, ответственных за формирование центральной управляющей команды. Наконец она зависит от состояния периферического нервно-мышечного аппарата. Кроме того, величина регистрируемого этим методом параметра зависит от функциональных характеристик органа-исполнителя – скелетной мышцы. Так, уменьшение массы тела вследствие частичной пищевой депривации сопровождается выраженным снижением произвольной силы мышц.

21.8.2. ТЕСТИРОВАНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ НАНОМАТЕРИАЛОВ *IN VITRO* И В МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ *IN VIVO*[67]

Метод оценки безопасности наноматериалов в модельной системе нормальной микрофлоры кишечника человека в условиях *in vitro*. Безопасность наноматериалов в отношении их влияния на микроорганизмы нормальной микрофлоры кишечника человека в условиях in vitro оценивают по влиянию наночастиц на ростовые, культуральные, морфологические, биохимические свойства этих микроорганизмов. Образцы наноматериалов в разных концентрациях одновременно с культурами основных видов нормальной микрофлоры кишечного тракта вносят в среду роста и проводят культивирование по стандартной методике. В качестве тест-микроорганизмов используют выделенные из стандартизированных коммерческих препаратов пробиотиков («Лактобактерина», «Бифидумбактерина» и «Колибактерина») штаммы следующих микроорганизмов: *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus fermentii, Lactobacillus acidophilus, Bifidumbacterium bifidum, Escherichia coli.*

Метод оценки безопаности наноматериалов на модельной системе патогенной бактерии *Chlamydia trachomatis*. Безопасность наноматериалов в отношении влияния на рост патогенов оценивают по воздействию наночастиц на размножение этих микроорганизмов. В качестве модельного объекта используют культуру внутриклеточной патогенной бактерии *Chlamydia trachomatis* в условиях in vitro. Для оценки ингибирующего эффекта образцов наноматериалов на развитие *C. trachomatis* проводят анализ жизнеспособности этого патогена, культивируемого в присутствии различных концентраций наночастиц. Образцы наноматериалов в разных концентрациях одновременно с патогеном вносят в культуру клеток и проводят культивирование по стандартной методике. Эффект оценивают методом прямой иммунофлуоресценции и количественным методом на основе ИФА в сравнении с контрольным образцом (клетки, зараженные *C. trachomatis* без наночастиц). В основе иммуноферментного анализа лежит иммунная реакция антигена (АГ) с антителом (АТ), а присоединение к антителам ферментной метки позволяет учитывать результат реакции антиген – антитело по появлению ферментативной активности. Модификация метода для количественного учета хламидийной инфекции основана на выявлении антигена хламидий в составе хламидийных включений в культуре клеток, культивируемых в 96-луночной плашке. Величина оптической плотности, полученная после проведения стандартной реак-

[67] МР 1.2.2566-09. «Оценка безопасности наноматериалов in vitro и в модельных системах in vivo».

ции ИФА и учета результатов с помощью спектрофотометра, прямо пропорциональна уровню инфекции в определенных лунках. Измерение для каждого варианта проводится в двух повторах. Положительным контролем является лунка, содержащая клетки, зараженные лабораторным штаммом хламидий в такой дозе, чтобы множественность инфекции (МОИ) составляла 1:1. Отрицательным контролем является лунка, содержащая клетки, зараженные лабораторным штаммом хламидий в дозе МОИ 1:1 и культивируемые в присутствии ингибирующей концентрации азитромицина (2 мг/см^3). Исследуемым образцом является лунка, содержащая клетки, зараженные лабораторным штаммом хламидий в дозе с МОИ 1:1 и культивируемые в присутствии исследуемых наноматериалов в изучаемых концентрациях. Учет результатов проводится через 48 часов после заражения. Результаты количественного учета хламидийной инфекции выражают в процентах по отношению к положительному контролю. *Chlamydia trachomatis* – патогенный для человека прокариотический микроорганизм, относится к 3-й группе патогенности. Этот вид является возбудителем заболеваний с урогенитальной патологией, чаще всего передающихся половым путем. *C. trachomatis* так же, как другие хламидии, имеет сложный жизненный цикл, который включает в себя переход от элементарных телец к ретикулярным тельцам через промежуточные формы. Проникая в клетки организма хозяина путем эндоцитоза, хламидии персистируют в эпителиальных клетках, распространяясь по организму хозяина внутри моноцитов периферической крови. *C. trachomatis* паразитируют внутри вакуолей (фагосом) клетки-хозяина и препятствуют их слиянию с лизосомами, что предотвращает гибель патогена внутри клетки и приводит к длительному персистированию хламидий в макроорганизме. В работе используют клеточную линию мышиных фибробластов McCoy, чувствительную к хламидийной инфекции.

Метод оценки безопасности наноматериалов на модельной системе условно патогенной бактерии *Pseudomonas aeruginosa*. Безопасность наноматериалов оценивают по величине ингибирующего эффекта наночастиц на размножение условно патогенных бактерий. В качестве модельной системы используют культуру условно патогенной бактерии *Pseudomonas aeruginosa* в условиях in vitro. Для определения воздействия образцов наноматериалов на *P. aeruginosa* проводят анализ жизнеспособности этого патогена, культивируемого вместе с различными концентрациями наночастиц. Образцы наноматериалов в разных концентрациях одновременно с патогеном вносят в среду роста и проводят культивирование по стандартной методике. Воздействие наноматериалов оценивают по степени воздействия исследуемых образцов наноматериалов на динамику роста микроорганизма. Бактерии вида *Pseudomonas aeruginosa* являются одним из наиболее распространенных возбудителей нозокомиальных инфекций ввиду того, что особенно легко поражает лиц с ослабленным иммунным статусом. При инфицировании детей с наследственным заболеванием «кистозный фиброз» *P. aeruginosa* вызывает тяжелые легочные инфекции, обусловленные образованием биопленок на тканях легких. Факторами патогенности *P. aeruginosa* являются наличие подвижности, токсинообразование, продукция литических ферментов. Прогноз ухудшается множественной резистентностью этих бактерий к действию.

Метод оценки безопасности наноматериалов на модельной системе дрожжеподобных грибов *Candida albicans* в условиях *in vitro*. Безопасность наноматериалов оценивают по влиянию наночастиц на размножение дрожжеподобных грибов *Candida albicans*. В качестве модельной системы используют культуры референс-штаммов *Candida albicans* из коллекции АТСС в условиях in vitro. Для оценки воздействия образцов наноматериалов на *Candida albicans* проводят анализ жизнеспособности этого дрожжеподобного гриба, культивируемого вместе с различными концентрациями наночастиц. Образцы наноматериалов в разных концентрациях одновременно с культурами *Candida albicans* вносят в среду роста и проводят культивирование по стандартной методике. Воздействие наноматериалов оценивают по степени ингибирующего эффекта исследуемых образцов наноматериалов на динамику роста патогена. В работе используют штаммы Candida albicans АТСС 885–653 и АТСС 24433. Грибы рода *Candida* семейства *Blastomycetes (*митоспоровые) в настоящее время являются наиболее изученными в отношении морфологии, физиологии, генетики, а также характеристик, обуславливающих их патогенность (факторов патогенности). Грибы *C. albicans* могут быть частью нормальной микрофлоры слизистых оболочек и кожи организма-хозяина. Грибы *C. albicans* не чувствительны к антибиотикам и способны вызывать заболевания, известные как кандизозы и монилеазы, на фоне антибиотикотерапии, вследствие нарушения нормального составы микрофлоры человека. *C. albicans* является дрожжеподобным грибом (по признаку почкования). Его клеточная стенка состоит из двух слоёв (внутреннего и наружного) и имеет голобластический тип почкования, в котором участвуют оба слоя клеточной стенки гриба. Клетки *C. albicans* имеют круглую или овальную форму с хорошо выраженным ядром, ядерным веществом в виде зерен различного размера и протоплазмой. *C. Albicans*, в отличие от других представителей этого рода, образующих чаще всего псевдомицелий, имеют истинные гифы, а также толстостенные хламидокамидии, расположенные на концах этих гиф, и бластокамидии – собственно дрожжевые клетки – структуры бесполого размножения всех дрожжевых грибов. Такие морфологические особенности характерны только для грибов *C. albicans*.

Метод оценки безопасности наноматериалов на модельной системе взаимодействия с поверхностными рецепторами эукариотических клеток в условиях *in vitro*. TLR (toll-like-receptors) – являются рецепторами врожденного иммунитета. Они специфически распознают различные структурные части микроорганизмов и обеспечивают активацию клеток, которая приводит к развитию воспаления. Предлагаемый метод основан на том, что через сигнальный каскад TLR ведет к активации транскрипционного фактора NFkB и его транслокации в ядро, где этот фактор связывается с собственным респонсивным элементом, под транскрипционным контролем которого находится ген бета-галактозидазы. Таким образом, по цветной реакции на бета–галактозидазу можно косвенно судить об активации TLR и, следовательно, о возможности возникновения воспалительной реакции. Принцип метода заключается в добавлении наночастиц происхождения к сформированному монослою клеток линии HEK-293, несущих различный набор Toll-подобных рецепторов. Обработанную культуру клеток инкубируют при 37ºС в CO_2-инкубаторе в течение 24 часов. Через 24 часа инкубации проводят измерение ферментативной активности продукта репортерного гена β-галактозидазы по цветовой реакции. В качестве модельной системы используется нескольких

типов клеточной культуры HEK 293, каждый из которых несет определенный набор Toll-подобных рецепторов. Клеточная линия HEK 293, несущая набор Toll-подобных рецепторов, сохраняет высокую чувствительность на протяжении 40–50 пассажей от момента получения. Раз в месяц проводят селекцию культур клеток на антибиотиках, указанных в таблице 5.2.1. для подтверждения наличия Toll-подобного/ных рецептора/ов и репортерного гена β-галактозидазы. Также раз в месяц проводят анализ культуры на наличие инфекционных контаминантов (микоплазм, грибов, вирусов и т.д.).

Метод оценки безопасности наноматериалов по гибели ракообразных *Daphnia magna* Straus[68]. Метод основан на установлении различия между количеством погибших дафний в анализируемой пробе (опыт) и культивационной воде (контроль). Критерием острой летальной токсичности является гибель 50% дафний и более в опыте по сравнению с контролем за 96 ч биотестирования.

Метод тестирования безопасности наноматерилов по гибели ракообразных *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. Метод основан на установлении различия между количеством погибших цериодафний в анализируемой пробе, содержащей наноматериалы, (опыт) и культивационной воде (контроль). Критерием острой летальной токсичности является гибель 50% цериодафний и более в опыте по сравнению с контролем за 48 ч биотестирования.

Метод тестирования безопасности наноматериалов по выживаемости и плодовитости ракообразных *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. Метод основан на установлении различия между показателями выживаемости и (или) плодовитости цериодафний в анализируемой пробе, содержащей тестируемые наноматериалы (опыт) и культивационной воде (контроль). Критерием хронической токсичности является статистически достоверное увеличение количества погибших исходных цериодафний и (или) уменьшение количества новорожденных особей в опыте по сравнению с контролем на протяжении трех последовательных пометов за (7±1) суток.

Метод тестирования безопасности наноматериалов по гибели рыб Nothobranchius rachovi и Danio rerio. Метод основан на установлении различия между количеством погибших рыб в анализируемой пробе, содержащей наноматериалы (опыт), и воде, которая не содержит токсических веществ (контроль). Критерием острой летальной токсичности является гибель 50% рыб и более в опыте по сравнению с контролем за 96 ч биотестирования.

Метод оценки безопасности наноматериалов по их цитокин-моделирующей активности in vivo. Цитокины являются важными регуляторами гомеостаза, активируя провоспалительные (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α) и антивоспалительные (ИЛ-10 и ИЛ-4) реакции, а также, Т-клеточное звено иммунитета. Выявление изменений в профиле транскрипции генов цитокинов, продуцируемых in vivo иммунокомпетентными клетками в организме животных при введении наноматериалов, указывает на наличие у тестируемых наноматериалов потенциальных иммуномодулирующих или иммуносупрессорных свойств и позволяет оценить безопасность наноматериалов. Исследования выполняют на самцах мышей инбредной линии CBA с исходной массой 12–14 г.

---

[68] Подробное описание методов тестирования ксенобиотиков на ракообразных см. в главе 8.

Глава 22

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА

22.1. ПОНЯТИЕ ОБ ЭКОЛОГИЧЕСКОМ РИСКЕ

Экологические проблемы и риски с каждым годом становятся всё более актуальны не только для общества в целом, но и для отдельных организаций, являющихся объектами административного менеджмента. Такие организации подразделяются на две основные группы. К первой группе относятся различные органы государственной власти, регионального и местного самоуправления. В состав второй входят крупные предприятия различных форм собственности. Организации, образующие первую и вторую группу, имеют непосредственное отношение к экологическим рискам. Причем субъекты первой группы больше выступают как контролирующие и сдерживающие органы, а предприятия второй группы – как потенциальные источники экологических опасностей и угроз. Тем не менее и для тех и для других большое значение имеет рациональное управление экологическими рисками, с которыми они сталкиваются в своей деятельности. Если рассматривать экологический риск как математическое ожидание функции потерь при отыскании оценок параметров математической модели или ее структуры, то его сущность можно определить, по крайней мере, шестью особо важными составляющими:

1) факт выброса в окружающую среду загрязняющих веществ или незапланированного истощения природных ресурсов;
2) объем поступившего вредного вещества;
3) вид загрязнителя;
4) продолжительность загрязняющего воздействия;
5) время года;
6) степень экологической опасности этого химического или физического элемента.

Обобщив приведённые выше характеристики, можно сформулировать понятие экологического риска. *Экологический риск* – это потенциально существующая возможность нанесения ущерба окружающей среде посредством аварийного выброса загрязняющих веществ или незапланированного патологического истощения природных ресурсов. В свою очередь, *экологическая катастрофа* – это аварийный выброс загрязняющих веществ, незапланированное истощение природных ресурсов.

В соответствии с новым подходом к экологической безопасности, основанным на концепции риска, различают индивидуальный и коллективный риски.

Индивидуальный риск определяется вероятностью экстремального вреда – смерти индивидуума от некоторой причины, рассчитываемой для всей его жизни или для одного года.

Коллективный риск чаще всего определяют количеством смертей от некоторой причины, действующей в течение определенного интервала времени (например, в течение 5 лет) на определенное количество людей (например, 10 тыс. человек).

Целесообразно ввести два важных понятия – ***максимально допустимый риск*** и ***пренебрежимо малый*** (безусловно приемлемый) ***риск***.

Риск признается пренебрежимым, если его уровень в силу своей малости не может быть надежно выявлен на фоне уже имеющихся рисков. В большинстве стран Западной Европы индивидуальный риск, которому подвергается население (это не относится к работающему на производстве персоналу), считается пренебрежимым, если его уровень не превышает величины 10^{-6} за год. Таким образом, значение пренебрежимого индивидуального риска составляет $1 \cdot 10^{-6}$ чел.$^{-1}$·год$^{-1}$. Это означает, что данная причина, действующая в течение одного года, увеличивает вероятность смерти от нее на одну милионную. Иначе говоря, если эта причина действует в течение года на миллион человек, то от нее может погибнуть один человек.

Для сравнения, в США индивидуальный допустимый риск, составляющий 10^{-6}, установлен не для одного года, а для всей жизни человека, средняя продолжительность которой принимается равной 70 годам. Следовательно, ежегодный индивидуальный допустимый риск составляет в США величину, равную $10^{-6}/70 = 1{,}43 \cdot 10^{-8}$ год$^{-1}$.

Верхняя граница допустимого риска (максимально допустимый риск) различна у населения и персонала, работающего во вредных условиях. В России максимально допустимый индивидуальный риск для техногенного облучения лиц из персонала принят равным $1{,}0 \cdot 10^{-3}$ за год, а для населения – $5{,}0 \cdot 10^{-5}$ за год (последняя величина в 50 раз превышает уровень пренебрежимого риска, который в России принят равным 10^{-6} за год). Согласно нормативам Агентства США по окружающей среде верхняя граница допустимого (приемлемого) риска от воздействия веществ с канцерогенными свойствами составляет 10^{-4}.

Все вышеизложенное имеет непосредственное отношение к экотоксикологии, а именно к экотоксикометрии. Специфическим методом экотоксикометрии является метод *оценки экологического риска*. Важнейшей характеристикой ксенобиотиков с позиции экотоксикологии является их *экотоксическая опасность*[69], под которой понимают потенциальную способность вещества в конкретных условиях вызывать повреждение биологических систем при попадании в окружающую среду. Потенциальная опасность вещества, определяется его стойкостью в окружающей среде (персистентность), способностью к

---

[69] Опасность – это способность химического, физического, биологического агента или совокупности определенных факторов наносить вред живому организму, существующая независимо от условий воздействия. Риск, в отличие от опасности, является результатом фактического или потенциального воздействия химического соединения и зависит от экспозиции и специфики конкретных условий воздействия.

биоаккумуляции, величиной токсичности для представителей различных биологических видов. Анализ риска включает в себя три взаимосвязанных элемента: *оценка риска, управление риском и информирование о риске.*

22.2. ОЦЕНКА РИСКА

Оценка риска – это научный анализ его происхождения, включая его выявление, определение степени опасности в конкретной ситуации.

Оценка экологического риска – это процесс определения вероятности развития неблагоприятных эффектов со стороны биогеоценозов (включая популяции человека) в результате изменений различных характеристик среды. В прикладной экологии понятие риска связано с источниками опасности для экологических систем и процессов, в них протекающих. К экологическим показателям ущерба (экологический риск) в этом случае относятся: разрушение биоты, вредное, порой необратимое воздействие на экосистемы, ухудшение качества окружающей среды, связанное с ее загрязнением, повышение вероятности возникновения специфических заболеваний, отчуждение земель, гибель лесов, озер, рек, морей (например, Аральского) и т.п.

Величина риска определяется как произведение величины ущерба I на вероятность W события i, вызывающего этот ущерб:

$$R = I \cdot W_i.$$

Поскольку процедура оценки риска сложна и в значительной степени страдает известной неопределенностью, с целью стандартизации исследований Агентство по защите окружающей среды США (EPA) разработало и утвердило план проведения таких работ. Он содержит описание последовательности решения задачи, учет неопределенностей и допущений с целью получения в какой-то степени унифицированной приблизительной информации о вероятности развития неблагоприятных экологических эффектов.

Согласно этому плану оценка экологического риска содержит этапы:

1. Формулирование проблемы и разработка плана анализа ситуации.
2. Анализ экологической ситуации.
3. Обработка данных, формирование выводов и представление материалов заказчику.

Этапы оценки экологического риска представлены на рис. 22.1.

Как правило, оценка экологического риска проводится в форме заказного исследования, выполняемого с целью получения информации, носящей перспективный или ретроспективный характер и необходимой заказчику (законодательные, управленческие структуры и т.д.) для принятия административных решений. Поэтому, в отличие от научных экотоксикологических исследований, в ходе которых рассматриваются объективные закономерности реакций биоценоза на действие стрессора, при определении экотоксического риска в качестве объектов среды, подлежащих изучению и «защите», могут выступать характеристики биосистемы, имеющие антропоцентрическое значение, а порой и отдельные элементы окружающей человека природы, субъективно воспринимаемые общественным мнением как весьма значимые.

Рис. 22.1. Этапы оценки экологического риска (Куценко, 2002)

При оценке экологического риска применяют различные методы:

– статистический метод – пригодный для однотипных некрупных предприятий (например, молочный завод);

– метод экспертных оценок, как правило, используемый для нового производства (не имеющего аналога);

– сопоставление экологического ущерба и экономической выгоды в случае возмещение ущерба за счет самого виновника аварий;

– анализ дерева событий – расшифровка роли «человеческого фактора»;

– анализ дерева отказов: отказ – ожидаемое событие, которое не проявилось в нужное время.

– сценарный анализ – для объектов атомной энергетики, нефтедобычы и пр.

В контексте экотоксикологии важным элементом оценки экологического риска является выявление опасности, связанной с возможным массивным воздействием на среду различных химических веществ (изменение естественного ксенобиотического профиля среды) и определение вероятности такого воздействия. В системе оценки экологического риска любое воздействие (будь то химический фактор-экотоксикант или энергетическое поле), вызывающее изменения в биологических системах (как позитивные, так и негативные), называется стрессором.

Первым шагом (этапом) оценки риска является идентификация опасности – определение реальной опасности для человека, окружающей среды. Здесь большая роль отводится научному исследованию. Попытка идентификации опасности сводится к поиску сигналов опасности, выделению такого сигнала на существующем фоне. Для идентификации опасности важны приемы апробации, отбора (например, различных препаратов), моделирования поведения различных веществ в среде, мониторинга и диагностики (оценки симптомов, последствий воздействия). Отметим, что все вопросы оценки, диагностики и прогноза следует отнести к системе мониторинга. Диагностика начинается с наблюдений отклонений – по этим отклонениям необходимо правильно определить «заболевание». Практически все данные, полученные с помощью мониторинга, требуют оценок, по большей части диагностических. При идентификации опасности первым является вопрос, что представляет собой опасность, при вычислении риска – какова его величина, т.е. необходимо определить вероятность возникновения данного опасного явления и вероятность неблагоприятных последствий. Для определения вычисления риска могут использоваться *предвидение, интуиция и экстраполяция*.

На рассматриваемом этапе процедуры оценки риска анализ ведется на качественном уровне.

Второй этап – оценка экспозиции – это оценка того, какими путями и через какие среды, на каком количественном уровне, в какое время и при какой продолжительности воздействия имеет место реальная и ожидаемая экспозиция; это также оценка получаемых доз, если она доступна, и оценка численности лиц, которые подвергаются такой экспозиции и для которых она представляется вероятной. Численность экспонированной популяции является одним из важнейших факторов для решения вопроса о приоритетности охранных мероприятий, возникающего при использовании результатов оценки риска в целях «управления риском». В идеальном варианте оценка экспозиции опирается на фактические данные мониторинга загрязнения различных компонентов окружающей среды (атмосферный воздух, воздух внутри помещений, почва, питьевая вода, продукты питания). Однако нередко этот подход неосуществим в связи с большими расходами. Кроме того, он не всегда позволяет оценить связь загрязнения с конкретным его источником и недостаточен для прогнозирования будущей экспозиции. Поэтому во многих случаях используют различные математические модели рассеивания атмосферных выбросов, их оседания на почве, диффузии и разбавления загрязнителей в грунтовых водах и/или открытых водоемах.

Третий этап – оценка зависимости «доза – эффект» – это поиск количественных закономерностей, связывающих получаемую дозу вещества с рас-

пространенностью того или иного неблагоприятного (для здоровья) эффекта, т.е. с вероятностью его развития. Подобные закономерности, как правило, выявляются в токсикологических экспериментах. Однако экстраполяция их с группы животных на человеческую популяцию связана со слишком большим числом неопределенностей. Каждое вредное вещество, попавшее в окружающую среду, создает риск угрозы здоровью. Этот риск зависит от дозы вещества, поступившей в организм человека. Зависимость риска от дозы загрязнителя может быть различной, основные виды этой зависимости представлены на рисунке 22.2.

Рис. 22.2. Зависимость риска угрозы здоровью от дозы загрязнителя: а – линейная зависимость (беспороговый загрязнитель); б – сложная связь (пороговый загрязнитель)

Линейной зависимостью (рис. 22.2 а) характеризуются загрязнители, негативное действие которых начинается уже при очень малых дозах. Такие вещества называются ***беспороговыми***. Негативные эффекты, обусловленные воздействием многих беспороговых загрязнителей, растут прямо пропорционально их дозе, которая, в свою очередь, прямо пропорциональна концентрации загрязнителя в воздухе, воде или продуктах питания. Линейной зависимостью риска от дозы характеризуются канцерогены – как нерадиоактивные, так и радионуклиды, действие которых приводит к внутреннему или внешнему облучению человека.

Зависимостью второго вида обладают ***пороговые*** загрязнители, действие которых вызывает негативные последствия, только когда величина дозы превзойдет некоторое пороговое значение. Один из вариантов такой зависимости риска от дозы представлен на (рис. 22.2 *б*). Считается, что пороговыми загрязнителями являются токсические, но неканцерогенные вещества.

Зависимость «доза – эффект», обоснованная эпидемиологическими данными, более надежна, но имеет свои зоны неопределенности. Этап оценки зависимости «доза – эффект» принципиально различается для канцерогенов и не канцерогенов. Для не канцерогенных токсических веществ методология исходит из концепции пороговости действия и признает возможным установить так называемую «референтную дозу» или «референтную концентрацию», при действии которых на человеческую популяцию, включая ее чувствитель-

ные подгруппы, не создается риск развития каких-либо уловимых вредных эффектов в течение всего периода жизни.

При оценке зависимости «доза – эффект» для канцерогенов, действие которых всегда рассматривается как не имеющее порога, предпочтение отдается так называемой линеаризованной многоступенчатой модели.

Заключительный этап процедуры оценки риска – характеристика риска – является результатом предыдущих этапов и включает оценку возможных и выявленных неблагоприятных эффектов в состоянии здоровья человека; оценку риска канцерогенных эффектов, установление коэффициента опасности развития общетоксических эффектов, анализ и характеристику неопределенностей, связанных с оценкой, и обобщение всей информации по оценке риска.

Рассмотрим особенности оценки риска загрязняющих веществ, характеризующихся беспороговым и пороговым действием, с учетом рекомендаций Агентства по защите окружающей среды США.

22.2.1. ОЦЕНКА РИСКА УГРОЗЫ ЗДОРОВЬЮ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ БЕСПОРОГОВЫХ ТОКСИКАНТОВ

Линейный характер зависимости между канцерогенным риском и дозой канцерогенного вещества выражается простой формулой:

$$r = F_r \cdot D, \qquad (22.1)$$

где r – индивидуальный канцерогенный риск; под ним следует понимать дополнительный риск (дополнительно к уже существующей вероятности заболеть раком) онкологического заболевания, вызываемый поступлением данного канцерогена; D – доза канцерогена, попавшего в организм человека; F_r – коэффициент пропорциональности между риском и дозой, называемый фактором риска.

Фактор риска F_r показывает, насколько быстро возрастает вероятность онкозаболевания при увеличении дозы канцерогена, поступившего в организм человека с воздухом, водой или пищей. Фактор риска еще называют коэффициентом наклона (Slope Factor), так как он характеризует угол наклона прямой зависимости «риск – доза». Очевидно, что чем больше угол наклона, тем больше угроза здоровью. Единица фактора риска F_r имеет размерность $[\text{мг/(кг·сут)}]^{-1}$. Она обратно пропорциональна единице среднесуточного поступления канцерогена. Фактор риска количественно характеризует увеличение угрозы здоровью в результате ежедневного поступления данного канцерогена в количестве 1 мг, отнесенного к 1 кг массы тела человека (табл. 22.1).

Часто индивидуальный канцерогенный риск вычисляют по формуле:

$$r = m \cdot F_r, \qquad (22.2)$$

где m – среднесуточное поступление канцерогена с воздухом, водой или с пищей, отнесенное к 1 кг массы тела человека, мг/(кг·сут). Удобство расчета риска r по этой формуле заключается в том, что в результате перемножения

величин m и F_r получается безразмерная величина. Значения факторов риска определяются, как правило, в результате опытов на животных.

Таблица 22.1

Факторы риска канцерогенов при поступлении в организм человека с водой и пищей

Канцерогены	$F_г$, [мг/(кг·сут)]$^{-1}$
Свинец и его соединения	$8{,}5\cdot10^{-3}$
Хлороформ	$3{,}1\cdot10^{-2}$
Бензол	$5{,}5\cdot10^{-2}$
Пентахлорфенол C_6Cl_5OH	0,12
Хлорбензол C_6H_5Cl	0,27
ДДТ	0,3
Кадмий и его соединения	0,38
Трихлорэтилен	0,40
Тетрахлорэтилен	0,54
Мышьяк	1,75
Винилхлорид	1,9
Бериллий, оксид	7,0
Полихлорированные бифенилы	5,0
Бенз(а)пирен	12
Бериллий (сульфат)	$3\cdot10^{3}$
Диоксины (смесь)	$1{,}6\cdot10^{5}$

При решении задач, в которых рассматривается поступление канцерогена с воздухом, его среднесуточное поступление m, отнесенное к 1 кг массы тела человека, рассчитывается по формуле:

$$m = \frac{C \cdot V \cdot f \cdot T_p}{P \cdot T}, \qquad (22.3)$$

где C – концентрация канцерогена в воздухе, мг/м^3; V – объем воздуха, поступающего в легкие в течение суток, м^3/сут (считается, что взрослый человек вдыхает 20 м^3 воздуха ежесуточно); f – количество дней в году, в течение которых происходит воздействие канцерогена; T_p – количество лет, в течение которых происходит воздействие канцерогена; P – средняя масса тела взрослого человека, принимая равной 70 кг; T – усредненное время возможного воздействия канцерогена, в качестве которого принимается средняя продолжительность жизни человека, считающаяся равной 70 годам (25550 сут.).

При решении задач, связанных с потреблением питьевой воды, среднесуточное поступление m канцерогена с водой на 1 кг массы тела человека определяется по формуле:

$$m = \frac{C \cdot v \cdot f \cdot T_P}{P \cdot T}, \qquad (22.4)$$

где C – концентрация канцерогена в питьевой воде, мг/л; v – скорость поступления воды в организм человека, л/сут. (считается, что взрослый

человек выпивает ежесуточно 2 литра воды); f – количество дней в году, в течение которых происходит воздействие канцерогена; T_p – количество лет, в течение которых происходит воздействие канцерогена; P – средняя масса взрослого человека, принимаемая равной 70 кг; T – усредненное время воздействия канцерогена, в качестве которого принимается средняя продолжительность жизни человека, считающаяся равной 70 годам (25550 сут.).

Если решаются задачи, связанные с потреблением продуктов питания, то среднесуточное поступление m канцерогена с пищей, приведенное к 1 кг массы тела человека, определяют по формуле:

$$m = \frac{C \cdot M \cdot T_p}{P \cdot T}, \qquad (22.5)$$

где C – концентрация канцерогена в рассматриваемом пищевом продукте; M – количество продукта, потребляемого за один год; T_p – количество лет, в течение которых потребляется рассматриваемый продукт; величины P и T – такие же, как и в формуле, по которой рассчитывается поступление канцерогена с воздухом или с водой.

После того, как вычислено среднесуточное поступление m канцерогена, приведенное к 1 кг массы тела человека, рассчитывают индивидуальный канцерогенный риск r по формуле:

$$r = m \cdot F_r, \qquad (22.6)$$

где F_r – фактор риска, выражаемый в [мг/(кг·сут)]$^{-1}$.

Если $r \leq 10^{-6}$, индивидуальный канцерогенный риск считается пренебрежимо малым. Верхний предел допустимого индивидуального канцерогенного риска принимается равным 10^{-4}.

Если $r > 10^{-4}$, индивидуальный канцерогенный риск считается недопустимым.

В случае воздействия нескольких канцерогенов полный риск выражается суммой отдельных рисков:

$$r_t = r_1 + r_2 + \ldots \qquad (22.7)$$

Коллективный канцерогенный риск R определяется формулами:

$$R = r \cdot N, \qquad (22.8)$$

$$R_t = r_t \cdot N, \qquad (22.9)$$

где N – количество человек, подвергающихся данному риску.

Пример. Рассчитать индивидуальный и коллективный риски угрозы здоровью для следующих условий. Содержание диоксинов в питьевой воде равно 10ПДК этих веществ в воде, ПДК составляет $2 \cdot 10^{-8}$ мг/л. Время потребления такой воды группой в 10^3 человек – 5 лет. Средняя частота потребления – 300 дней в году. Фактор риска при поступлении диоксинов с водой равен $1{,}6 \cdot 10^5$ [мг/(кг·сут.)]$^{-1}$.

Исходные данные. C = 10ПДК = $2\cdot10^{-7}$ мг/л;
v = 2 л/сут.; f = 300 сут./год; $F_г = 1{,}6\cdot10^5$ [мг/(кг·сут.)]$^{-1}$;
T_p = 5 лет; $N = 10^3$ чел; P = 70 кг; T = 70 лет.

Решение. Среднесуточное поступление диоксинов с питьевой водой на 1 кг массы тела человека:

$$m = \frac{C\cdot v\cdot f\cdot T_p}{P\cdot T} = \frac{2\cdot10^{-7}(\text{мг/л})\cdot2(\text{л/сут.})\cdot300(\text{сут./год})\cdot5(\text{лет})}{70(\text{кг})\cdot25550(\text{сут.})}$$

$$= \frac{6\cdot10^{-4}(\text{мг})}{1788500(\text{кг}\cdot\text{сут.})} = 3{,}4\cdot10^{-10}\,\text{мг/кг}\cdot\text{сут.}$$

Индивидуальный канцерогенный риск:

$$r = m\cdot F_г = 3{,}4\cdot10^{-10}(\text{мг/кг·сут.})\times 1{,}6\cdot10^5((\text{мг/кг·сут.})^{-1}) = 5{,}4\cdot10^{-5}.$$

Если привести к одному году, то индивидуальный риск будет равен $5{,}4\cdot10^{-5}$: 5= = $1{,}1\cdot10^{-5}$. Это значение ниже уровня допустимого риска, который считается равным $1\cdot10^{-4}$ чел.$^{-1}$·год$^{-1}$. Коллективный риск

$$R = r\cdot N,$$

для условий данной задачи

$$R = 5{,}4\cdot10^{-5}\ \text{чел.}^{-1}\times 10^3\ \text{чел.} = 0{,}054 << 1.$$

Таким образом, в рассматриваемом случае можно ожидать, что в течение 5 лет не будет наблюдаться ни одного дополнительного случая появления онкологического заболевания.

22.2.2. ОЦЕНКА РИСКА УГРОЗЫ ЗДОРОВЬЮ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПОРОГОВЫХ ТОКСИКАНТОВ

Как уже говорилось, зависимостью второго вида обладают ***пороговые*** загрязнители, действие которых вызывает негативные последствия, только когда величина дозы превзойдет некоторое пороговое значение. Считается, что пороговыми загрязнителями являются токсические, но неканцерогенные вещества.

Доза загрязнителя D определяется произведением его концентрации в воздухе, питьевой воде или пищевых продуктах C, скорости его поступления в организм v и временем поступления в организм t:

$$D = C\cdot v\cdot t. \qquad (22.10)$$

Концентрацию C для воды выражают в мг/л, для воздуха – в мг/м^3, для продуктов питания – в мг/кг. Скорость (интенсивность) поступления v измеряется в л/сутки для воды, для воздуха – в л/мин или м^3/сут., для продуктов питания – в кг/день или кг/год.

Для расчета рисков, обусловленных присутствием вредных веществ в компонентах среды обитания, необходимо знать стандартные количества воздуха, воды, поступающих в организм человека, а также средние количества продуктов питания. В табл. 22.2 приведены стандарты объема воздуха и массы воды, поступающие в организм взрослого человека, принятые в РФ.

Таблица 22.2

Стандарты объема воздуха и массы воды, поступающие в организм взрослого человека

Контингент	Воздух	Вода
Население	$7{,}3 \cdot 10^6$ л/год = 20 м^3/сут.	730 л/год = 2 л/сут.
Персонал	$2{,}5 \cdot 10^6$ л/год = 10 ^{3}/день (если в году 250 рабочих дней)	0

Негативное воздействие должно характеризоваться значением той ***пороговой дозы*** (или ***мощности дозы***, т.е. величиной дозы, отнесенной к некоторому интервалу времени), начиная с которой появляются неблагоприятные последствия. Практика исследований зависимости между значением дозы токсиканта и его действием (эффектом) показала, что возможно несколько подходов к установлению величины пороговой мощности дозы. Соответственно возможно использование следующих значений, выявляемых опытным путем (как правило, по результатам экспериментов с животными):

- $\boldsymbol{H_{NOEL}}$ – наибольшая пороговая мощность дозы, которая не приводит к появлению каких бы то ни было статистически значимых биологических эффектов (*NOEL* – англ.: *no-observed-effect-level*, т.е. уровень, при котором никакие эффекты не наблюдаются);
- $\boldsymbol{H_{NOAEL}}$ – наибольшая мощность дозы, которая не приводит к появлению статистически значимых неблагоприятных биологических эффектов (*NOAEL – no-observed-adverse-effect-level*, т.е. уровень, при котором не наблюдаются неблагоприятные эффекты);
- $\boldsymbol{H_{LOEL}}$ – наименьшая мощность дозы, которая приводит к появлению каких бы то ни было статистически значимых биологических эффектов (*LOEL – lowest-observed-effect-level,* т.е. наинизший уровень, при котором наблюдаются эффекты);
- $\boldsymbol{H_{LOAEL}}$ – наименьшая мощность дозы, которая приводит к появлению статистически значимых неблагоприятных биологических эффектов (*LOAEL – lowest-observed-adverse-effect-level*, т.е. наинизший уровень, при котором наблюдаются неблагоприятные эффекты).

Все четыре величины измеряются количеством загрязниетеля, поступающего в единицу времени в организм человека или животного и нормированного на единицу массы тела. Обычно количество токсиканта измеряется в миллиграммах, единицей времени служит день (сутки), а единицей массы тела – килограмм; следовательно, размерность перечисленных величин – мг/(кг·сут.).

Оптимальное согласование экспериментальных данных и результатов наблюдений над группами риска означает, что имеется достаточная информация по всем перечисленным выше факторам. Однако на практике такое согласование обеспечить не удается. Поэтому приходится вводить коэффициенты неопределенности, которые играют роль своеобразного «запаса надежности» в процессе вычисления мощности дозы. Обычно

используют три коэффициента: F_1, F_2 и F_3, на их произведение делят величину пороговой мощности дозы:

$$H_D = \frac{H_{D(i)}}{F_1 \cdot F_2 \cdot F_3}, \qquad (22.11)$$

где $H_{D(i)}$ – любое из представленных выше значений пороговой мощности дозы, а H_D – ее скорректированное значение.

Коэффициент F_1 используется для учета возможных межвидовых вариаций в проявлении эффектов от одной и той же мощности дозы, т.е. он характеризует межвидовые различия в чувствительности к токсиканту. Если биокинетические особенности токсиканта и механизмы его токсичности у экспериментальных животных и людей различаются сильно, то коэффициенту F_1 приписывают максимальное значение, равное 10. Если биокинетика и механизмы токсичности у экспериментальных животных и людей схожи, то $F_1 = 1$.

Коэффициент F_2 ответственен за внутривидовые различия в действии токсиканта, которые обусловлены индивидуальной чувствительностью. Его значения могут меняться от 1 до 10; также обычно полагают $F_2 = 1$, если существенные индивидуальные различия в чувствительности к данному токсиканту не выявлены.

Коэффициент F_3 повышает надежность расчетов, связанных с переходом от сравнительно кратковременных наблюдений к оценкам эффектов на значительно больший период времени. Значение этого коэффициента может варьировать от 10 до 100. Когда требуется оценить H_{NOEL} или H_{NOAEL} для всей жизни животного или человека, а имеются данные только по кратковременным экспериментам, то полагают $F_3 = 10$. Для оценки же H_{LOEL} или H_{LOAEL} при тех же условиях используется максимальное значение $F_3 = 100$.

Таким образом, введение коэффициентов неопределенности F_1, F_2 и F_3 существенно снижает значение пороговой мощности дозы, что обусловлено влиянием ряда неопределенностей. Максимальное значение произведения коэффициентов $F_1 \cdot F_2 \cdot F_3 = 10 \cdot 100 \cdot 10 = 10000$.

Можно сказать, что эти коэффициенты выполняют роль факторов перестраховки, так как в расчеты риска будут входить намеренно заниженные значения пороговой мощности дозы. Например, для тетраэтилсвинца в результате опытов с животными было получено значение H_{LOAEL}, равное 0,0012 мг/(кг·сут.). Но из-за несовершенства условий экспериментов коэффициентам неопределенности пришлось приписать наибольшие значения, поэтому скорректированное значение пороговой мощности дозы H_D при поступлении этого токсиканта с водой или пищей составило 0,0012:10000 = $= 1{,}2 \cdot 10^{-7}$ мг/(кг·сут.).

В случае другого токсиканта – фенола – выполненные эксперименты характеризовались существенно меньшей неопределенностью, произведение $F_1 \cdot F_2 \cdot F_3$ оказалось равным 100. Поскольку значение H_{NOAEL} было при поступлении фенола с водой или пищей равно 60 мг/(кг·сут.),

скорректированное значение пороговой мощности дозы H_D составило 60:100 = = 0,6 мг/(кг·сут.).

Единица мощности пороговой дозы – мг/(кг·сут.) – связана зависимостью воздействия поступающего в организм токсиканта от массы тела. Перед тем как зафиксировать значение этой дозы для людей, проводятся опыты на животных, причем используются, как правило, несколько групп животных, для каждой из них принимается средняя величина массы тела. Часто объектами таких опытов становятся мыши, крысы, морские свинки и кролики.

В табл. 22.3 указаны значения пороговой мощности дозы H_D, приведенные в порядке убывания пороговой мощности дозы при поступлении некоторых токсикантов-неканцерогенов с водой и пищей.

Таблица 22.3

Значения пороговой мощности дозы H_D при поступлении некоторых токсикантов-неканцерогенов с водой и пищей

Токсикант, поступающий с водой и пищей	H_D, мг/(кг·сут)
Этиленгликоль	2
Ацетон	0,9
Нефтепродукты	0,6
Фенол	0,6
Метанол	0,5
Формальдегид	0,2
Пентахлорфенол C_6Cl_5OH	$3\cdot10^{-2}$
Бензол	$4\cdot10^{-3}$
Винилхлорид	$3\cdot10^{-3}$
Нитробензол $C_6H_5NO_2$	$5\cdot10^{-4}$
ДДТ	$5\cdot10^{-4}$
Метилртуть $Hg(CH_3)_2$	$1\cdot10^{-4}$
Тетраэтилсвинец	$1{,}2\cdot10^{-7}$

После того как вычислено среднесуточное поступление токсиканта, отнесенное к 1 кг массы тела (m), рассчитывается величина, называемая ***индексом опасности***. Ее обозначают через HQ (от англ. *Hazard Quotient*) и определяют выражением:

$$HQ = \frac{m}{H_D}, \qquad (22.12)$$

где H_D – пороговая мощность дозы.

Если $HQ < 1$, то опасности нет, риска угрозы здоровью нет. Если $HQ > 1$, то существует опасность отравления, которая тем больше, чем больше индекс HQ превышает единицу.

Если в воздухе, питьевой воде или в пище содержится несколько токсикантов, то полный индекс опасности HQ_t равен сумме индексов опасности отдельных токсикантов:

$$HQ_t = HQ_1 + HQ_2 + HQ_3 + \ldots \qquad (22.13)$$

Если $HQ_t < 1$, то опасности нет, риск угрозы здоровью отсутствует.

Пример. В одном из колодцев обнаружен тяжелый металл – шестивалентный хром, причем его содержание в воде этого колодца в десять раз превысило значение ПДК хрома (VI) для питьевой воды (0,05 мг/л). Данным колодцем пользуются в течение 6 лет. Рассчитать индивидуальный риск угрозы здоровью.

C = 10ПДК = 0,5 мг/л; v = 2 л/сут; T_p = 6 лет;

f = 365 сут/год; P = 70 кг; T = 30 лет = 10950 сут. (в данном примере);

$H_D = 5 \cdot 10^{-3}$ мг/кг·сут.

Решение

Среднесуточное поступление токсиканта с водой на 1 кг массы тела человека:

$$m = \frac{C \cdot v \cdot f \cdot T_p}{P \cdot T} = \frac{0,5(\text{мг / л}) \cdot 2(\text{л/сут.}) \cdot 365(\text{сут.}) \cdot 6(\text{лет})}{70(\text{кг}) \cdot 10950(\text{сут.})}$$

$$= \frac{2190(\text{мг})}{766500(\text{кг}\times\text{сут.})} = 2,9 \cdot 10^{-3} \text{мг / кг}\times\text{сут.}$$

Индекс опасности:

$$HQ = \frac{m}{H_D} = \frac{2,9 \cdot 10^{-3}(\text{мг/кг}\times\text{сут.})}{5 \cdot 10^{-3}(\text{мг/кг}\times\text{сут.})} = 0,58 < 1 .$$

Опасности отравления нет, риска угрозы здоровью нет.

22.3. УПРАВЛЕНИЕ РИСКОМ

Управление риском – это анализ самой рисковой ситуации, разработка и обоснование управленческого решения, как правило, в форме нормативного акта, направленного на уменьшение риска, поиск путей сокращения риска. Управление риском является логическим продолжением оценки риска и направлено на обоснование наилучших в данной ситуации решений по его устранению или минимизации, а также динамическому контролю (мониторингу) экспозиций и рисков, оценке эффективности и корректировке оздоровительных мероприятий. Управление риском базируется на совокупности политических, социальных и экономических оценок полученных величин риска, сравнительной характеристике возможных ущербов для здоровья людей и общества в целом, возможных затрат на реализацию различных вариантов управленческих решений по снижению риска и тех выгод, которые будут получены в результате реализации мероприятий (например, сохраненные человеческие жизни, предотвращенные случаи заболеваний и др.). Развитие теории риска привело к последовательному формированию принципов, характеризующих отношение общества к обеспечению безаварийного функционирования техногенных объектов – источников экологической опасности:

– *принцип нулевого риска* – отражающий уверенность в том, что риск не будет нанесен;

– *принцип последовательного приближения к абсолютной безопасности*, т.е. к нулевому риску, предполагающий исследование определенных сочетаний альтернативных структур, технологий и т.п.;

– *принцип минимального риска*, в соответствии с которым уровень опасности устанавливается настолько низким, насколько это реально достижимо исходя из оправданности любых затрат на защиту человека;

– *принцип сбалансированного риска*, учитывающий различные естественные опасности и антропогенные воздействия, предполагающий изучение степени риска каждого события и условия, в которых люди подвергаются опасности;

– *принцип приемлемого риска*, базирующийся на анализе соотношений «затраты – риск», «выгода – риск», «затраты – выгода».

Концепция приемлемого риска исходит из того, что полное исключение риска либо практически невозможно, либо экономически нецелесообразно. В соответствии с этим устанавливается рациональная безопасность, при которой оптимизируются затраты на предотвращение риска и размеры ущерба при возникновении чрезвычайных ситуаций.

Управление экологическим риском состоит, с одной стороны, в профилактике возникновения экологических катастроф, с другой – в минимизации их негативных последствий.

Профилактика возникновения экологических катастроф осуществляется в основном посредством:

1) чёткого прогнозирования экологических последствий планируемых к реализации проектов;

2) разработки и внедрения экологически чистых и ресурсосберегающих технологий;

3) экономического стимулирования хозяйствующих субъектов, бережно относящихся к окружающей среде;

4) административно-правового сдерживания недобросовестных предпринимателей;

5) всё более широкого применения экологического образования и пропаганды.

22.4. ИНФОРМИРОВАНИЕ О РИСКЕ

Информирование о риске представляет собой процесс распространения результатов определения степени риска для здоровья человека и решений по его контролю среди заинтересованной части населения (например, среди врачей, научных сотрудников, политиков, лиц, принимающих управленческие решения, населения и общества в целом). Передача и распространение информации о риске являются естественным продолжением процесса оценки риска. Полученные в процессе оценки риска данные должны быть полностью понятны специалистам по регулированию риска и, кроме того, доступны для представителей прессы и заинтересованных групп населения. При распространении информации о риске необходимо принимать во внимание особенности восприятия риска разными группами населения. Население в своем восприятии риска ориентируется не только на его количественные характеристики и

возможные последствия для здоровья, но и на уже сформировавшееся мнение общественности («факторы возмущения»).

При выборе методов снижения рисков руководствуются различными приоритетами:

– *упразднение* – исключает любую деятельность в зоне риска. Метод абсолютно надежный, но его повсеместное применение означает полное прекращение деятельности;

– *предотвращение потерь* – проведение превентивных мероприятий (например, разработка проекта ОВОС);

– *страхование* – распределение возможных потерь среди большой группы физических и юридических лиц, подвергающихся однотипному риску;

– *поглощение* – признание возможности ущерба и его допущения, фактически самострахование, т.е. покрытие убытков за счет резервных фондов.

Методология оценки экологического риска до конца не разработана. В подавляющем большинстве случаев её выводы носят качественный, описательный характер. Попытки внедрить методы количественной оценки сталкиваются с серьезными трудностями. Это обусловлено сложностью экосистем, комплексностью воздействия на среду стрессоров (не только химической, но и физической, и биологической природы), недостаточной изученностью характеристик экотоксической опасности огромного количества ксенобиотиков, используемых человеком, и т.д. В этой связи, по мнению самих экологов, в настоящее время оценка экологического риска в значительной степени является искусством.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подведем некоторые итоги рассмотрения проблем, принципов и методов экологической токсикологии. Итак, экотоксикология изучает развитие токсических эффектов, проявляющихся при действии загрязняющих веществ на широкий спектр видов живых организмов, включая человека, как правило, на уровне популяций, сообществ или экосистемы в целом, а также судьбу химического вещества в ней. В процессе изучения эффектов химических веществ, присутствующих в окружающей среде, на живые организмы экотоксикология основывается на уже устоявшихся категориях, понятиях и теоретической базе классической и промышленной токсикологии, биологии, экологии, медицины и применяет их экспериментальные и методические подходы. Содержанием дисциплины экотоксикологии является учение об *экотоксичности*, а основными рассматриваемыми вопросами: характеристика *ксенобиотического профиля* среды обитания, проблемы *экотоксикокинетики, экотоксикодинамики*, *экотоксикометрии.* Для экотоксикологии интерес представляют молекулы, обладающие биодоступностью, т.е. способные взаимодействовать немеханическим путем с живыми организмами. Часть биодоступных соединений подвергается биотрансформации живыми организмами, участвуя в процессах их пластического и энергетического обмена с окружающей средой, т.е. выступают в качестве ресурсов среды обитания. Другие же не используются как источники энергии или пластический материал, но способны модифицировать течение нормальных физиологических процессов, это – ксенобиотики.

Ксенобиотический профиль. Совокупность ксенобиотиков, содержащихся в окружающей среде и взаимодействующих с биологическими объектами экосистемы составляют ксенобиотический профиль (КБП) биогеоценоза. Ксенобиотический профиль следует рассматривать как один из важнейших факторов внешней среды (наряду с температурой, освещенностью, влажностью, трофическими условиями и т.д.), который может быть описан качественными и количественными характеристиками. Ксенобиотики, содержащиеся в органах и тканях живых существ, являются элементами КСП, поскольку все они рано или поздно потребляются другими организмами (т.е. обладают биодоступностью). Напротив, химические вещества, фиксированные в твердых, не диспергируемых в воздухе и нерастворимых в воде объектах, хотя и не обладают биодоступностью, однако являются источниками формирования КБП. Ксенобиотические профили среды, сформировавшиеся в ходе эволюционных процессов, являются естественными КБП. Они различны в разных регионах Земли. Очевидно, что сообщества организмов, существующие в разных регионах (биотопах), в той или иной степени адаптированы к соответствующим естественным КБП. Естественный КБП может меняться под воздействием природных и антропогенных факторов, к числу которых относятся химиче-

ские вещества, накапливающиеся в окружающей среде в результате хозяйственной деятельности человека в несвойственных ей количествах, выступающие в качестве экополлютантов (загрязняющих веществ). Экополлютант, накопившийся в среде в количестве, достаточном для инициации токсического процесса в биоценозе (на любом уровне организации живой материи), может быть обозначен как экотоксикант (Куценко, 2002). Определение количественных параметров, при которых экополлютант трансформируется в экотоксикант, является насущной проблемой экотоксиоклогии. При её решении необходимо учитывать, что в реальных условиях на биоценоз действует весь ксенобиотический профиль среды, модифицируя при этом биологическую активность отдельного поллютанта. Поэтому в разных регионах, характеризующихся специфическими биоценозами и КБП, количественные параметры трансформации поллютанта в экотоксикант могут быть различны.

Экотоксикокинетика. Судьбу ксенобиотиков (экополлютантов) в окружающей среде изучает экотоксикокинетика. В круг ее задач входит рассмотрение источников появления ксенобиотиков; распределение их в абиотических и биотических элементах окружающей среды; превращение ксенобиотика в среде обитания; элиминацию из окружающей среды. К числу природных источников биодоступных ксенобиотиков относят переносимые ветром частицы пыли, аэрозоль морской соли, следы вулканической деятельности, лесные пожары, биогенные частицы, биогенные летучие вещества. Другим источником ксенобиотиков в среде, значение которого неуклонно возрастает, является деятельность человека. Важнейшим элементом экотоксикологической характеристики поллютантов является идентификация их источников. Многочисленные абиотические и биотические процессы в окружающей среде направлены на элиминацию экополлютантов. Многие ксенобиотики, попав в воздух, почву, воду приносят минимальный вред экосистемам, поскольку время их воздействия мало. Вещества, оказывающиеся устойчивыми к процессам разрушения и, вследствие этого, длительно *персистирующие* в окружающей среде, как правило, являются потенциально опасными экотоксикантами. Постоянный выброс в окружающую среду персистирующих поллютантов приводит к их накоплению, превращению в экотоксиканты для наиболее уязвимого (чувствительного) звена биосистемы. После прекращения выброса персистирующего токсиканта он еще длительное время сохраняется в среде. Так, в воде озера Онтарио в 90-е годы определяли высокие концентрации пестицида мирекс, использование которого было прекращено еще в конце 70-х годов. К числу веществ, длительно персистирующих в окружающей среде, относятся тяжелые металлы (свинец, медь, цинк, никель, кадмий, кобальт, сурьма, ртуть, мышьяк, хром), полициклические полигалогенированные углеводороды (полихлорированные дибензодиоксины и дибензофураны, полихлорированные бифенилы и т.д.), некоторые хлорорганические пестициды (ДДТ, гексахлоран, алдрин, линдан и т.д.) и многие другие вещества.

Подавляющее большинство веществ подвергается в окружающей среде различным превращениям. Характер и скорость этих превращений определяют их стойкость. На стойкость вещества в окружающей среде влияет большое количество процессов. Основными являются фотолиз (разрушение под влиянием света), гидролиз, окисление. Свет, особенно ультрафиолетовые лучи,

способен разрушать химические связи и тем самым вызывать деградацию химических веществ. Фотолиз проходит главным образом в атмосфере и на поверхности почвы и воды. Скорость фотолиза зависит от интенсивности света и способности вещества его поглощать.

Вода, особенно при нагревании, быстро разрушает многие вещества в результате гидролиза. Скорость гидролиза сильно зависит от *p*H.

Абиотическое разрушение химических веществ обычно проходит с малой скоростью. Значительно быстрее деградируют ксенобиотики при участии биоты (биотрансформация), особенно вследствие энзиматического разрушения микроорганизмами (главным образом бактерий и грибов), которые используют их как питательные вещества. В основе биотрансформации загрязняющих веществ лежат процессы окисления, гидролиза, дегалогенирования, расщепления циклических структур молекулы, отщепление алкильных радикалов (деалкилирование) и т.д. Деградация соединения может завершаться его полным разрушением, т.е. минерализацией (образование воды, двуокиси углерода, других простых соединений). Однако возможно образование промежуточных продуктов биотрансформации веществ, обладающих порой более высокой токсичностью, чем исходный агент. Так, превращение неорганических соединений ртути фитопланктоном может приводить к образованию более токсичных ртутьорганических соединений, в частности метилртути. Перемещение ветром и атмосферными течениями частиц токсикантов или почвы, на которых адсорбированы вещества, также важный путь перераспределения поллютантов в окружающей среде. В этом плане характерен пример полициклических ароматических углеводородов (бензпирены, дибензпирены, бензантрацены, дибензантрацены и др.). Бензпирен и родственные ему соединения как естественного (главным образом вулканического), так и антропогенного происхождения (выброс металлургического, нефтеперерабатывающего производств, предприятий теплоэнергетики и т.д.) активно включаются в биосферный круговорот веществ, переходя из одной среды в другую. При этом, как правило, они связаны с твердыми частицами атмосферной пыли. Сорбция веществ на взвешенных частицах в воде, с последующим осаждением приводит к их элиминации из толщи воды, но накоплению в донных отложениях. Осаждение резко снижает биодоступность загрязнителя. Перераспределению водорастворимых веществ способствуют дожди и движение грунтовых вод. Если загрязняющее вещество из окружающей среды не может попасть внутрь организма, оно, как правило, не представляет для него существенной опасности. Однако, попав во внутренние среды, многие ксенобиотики способны накапливаться в организме. Процесс, посредством которого организмы накапливают токсиканты, извлекая их из абиотической фазы (воды, почвы, воздуха) и из пищи (трофическая передача), называется *биоаккумуляцией*. Результатом биоаккумуляции являются пагубные последствия как для самого организма (достижение поражающей концентрации в критических тканях), так и для организмов, использующих данный биологический вид в качестве пищи по трофическим цепям. Водная среда обеспечивает наилучшие условия для биоаккумуляции вредных соединений. Здесь обитает большое число водных организмов, фильтрующих и пропускающих через себя огромное количество воды, экстрагируя при этом токсиканты, способные к кумуля-

ции. Гидробионты накапливают вещества в концентрациях, порой в тысячи раз больших, чем содержится в воде. Склонность экотоксикантов к биоаккумуляции зависит от ряда факторов. Первый – персистентность ксенобиотика, поскольку степень накопления загрязняющего вещества в организме в конечном счете определяется его содержанием в окружающей среде. Вещества, быстро элиминирующиеся, в целом плохо накапливаются в организме. Исключением являются условия, при которых поллютант постоянно привносится в окружающую среду (регионы вблизи источников вредных производств и т.д.). После поступления веществ в организм их судьба определяется токсикокинетическими процессами. Наибольшей способностью к биоаккумуляции обладают жирорастворимые (липофильные) вещества, медленно метаболизирующиеся в организме. Жировая ткань, как правило – основное место длительного депонирования ксенобиотиков. Биоаккумуляция может лежать в основе не только хронических, но и отсроченных острых токсических эффектов. Так, быстрая потеря жира, в котором накоплено большое количество вещества, приводит к выходу токсиканта в кровь. Мобилизация жировой ткани у животных нередко отмечается в период размножения. В экологически неблагополучных регионах это может сопровождаться массовой гибелью животных при достижении ими половой зрелости. Стойкие поллютанты могут также передаваться потомству, у птиц и рыб – с содержимым желточного мешка, у млекопитающих – с молоком кормящей матери. При этом возможно развитие эффектов у потомства, не проявляющихся у родителей. Химические вещества могут перемещаться по пищевым цепям от организмов-жертв, к организмам-консументам. Для высоко липофильных веществ это перемещение может сопровождаться увеличением концентрации токсиканта в тканях каждого последующего организма – звена пищевой цепи (*биомагнификация)*.

Экотоксикодинамика – раздел экотоксикологиии, рассматривающий конкретные механизмы развития и формы токсического процесса, вызванного действием экотоксикантов на биоценоз и/или отдельные виды, его составляющие. Механизмы, посредством которых вещества могут вызывать неблагоприятные эффекты в биогеоценозах, многочисленны и, вероятно, в каждом конкретном случае, уникальны. Вместе с тем они поддаются классификации. Так, можно выделить прямое, опосредованное и смешанное действие экотоксикантов. Прямое действие – это непосредственное поражение организмов определенной популяции или нескольких популяций (биоценоза) экотоксикантом или совокупностью экотоксикантов данного ксенобиотического профиля среды. Примером веществ с подобным механизмом действия на человека является кадмий. Этот металл накапливается в организме даже при минимальном его содержании в среде и при достижении критической концентрации инициирует токсический процесс, проявляющийся поражением дыхательной системы, почек, иммуносупрессией и канцерогенезом. Опосредованное – это действие ксенобиотического профиля среды на биотические или абиотические элементы среды обитания популяции, в результате которого условия и ресурсы среды перестают быть оптимальными для её существования. Многие токсиканты способны оказывать как прямое, так и опосредованное, т.е. смешанное действие. Примером веществ, обладающих смешанным механизмом экотоксического действия, являются, в частности, гербициды

2,4,5-Т и 2,4-Д, содержащие в качестве примеси небольшое количество 2,3,7,8-тетра-хлордибензо-*р*-диоксин (ТХДД). Широкое использование этих веществ американской армией во Вьетнаме нанесло значительный ущерб растительному, животному миру страны и непосредственно здоровью людей.

Экотоксичность – это способность данного ксенобиотического профиля среды вызывать неблагоприятные эффекты в соответствующем биоценозе. В тех случаях, когда нарушение естественного ксенобиотического профиля связано с избыточным накоплением в среде лишь одного поллютанта, можно условно говорить об экотоксичности только этого вещества. Неблагоприятные экотоксические эффекты, целесообразно рассматривать на различных уровнях организации живой материи (Куценко, 2002):

– на уровне организма (*аутэкотоксические*) – проявляются снижением резистентности к другим действующим факторам среды, понижением активности, заболеваниями, гибелью организма, канцерогенезом, нарушениями репродуктивных функций и т.д.

– на уровне популяции (*демэкотоксические*) – проявляются гибелью популяции, ростом заболеваемости, смертности, уменьшением рождаемости, увеличением числа врожденных дефектов развития, нарушением демографических характеристик (соотношение возрастов, полов и т.д.), изменением средней продолжительности жизни, культурной деградацией.

– на уровне биогеоценоза (*синэкотоксические*) – проявляются изменением популяционного спектра ценоза, вплоть до исчезновения отдельных видов и появления новых, не свойственных данному биоценозу, нарушением межвидовых взаимоотношений.

В случае оценки экотоксичности лишь одного вещества в отношении представителей только одного вида живых существ, в полной мере могут быть использованы качественные и количественные характеристики, принятые в классической токсикологии (величины острой, подострой, хронической токсичности, дозы и концентрации, вызывающие мутагенное, канцерогенное и иные виды эффектов и т.д.). Однако в более сложных системах, экотоксичность количественно не измеряется, она характеризуется целым рядом показателей качественно или полуколичественно, через понятия опасность или экологический риск.

В зависимости от продолжительности действия экотоксикантов на экосистему можно говорить об острой и хронической экотоксичности. Острое токсическое действие веществ на биоценоз может явиться следствием аварий и катастроф, сопровождающихся выходом в окружающую среду большого количества относительно нестойкого токсиканта или неправильного использования химикатов. С хронической токсичностью веществ, как правило, ассоциируются сублетальные эффекты. Часто при этом подразумевают нарушение репродуктивных функций, иммунные сдвиги, эндокринную патологию, пороки развития, аллергизацию и т.д. Однако хроническое воздействие токсиканта может приводить и к смертельным исходам среди особей отдельных видов. Проявления действия экотоксикантов на человека могут быть самыми разнообразными и при определенных уровнях интенсивности воздействия оказываются достаточно специфичными для действующего фактора.

Экотоксикометрия – раздел экотоксикологии, в рамках которого рассматриваются методические приемы, позволяющие оценить (перспективно или ретроспективно) экотоксичность ксенобиотиков. Все виды классических количественных токсикологических исследований в полной мере используются для определения экотоксичности ксенобиотиков. Острая токсичность экополлютантов определяется экспериментально на нескольких видах организмов, являющихся представителями различных уровней трофической организации в экосистеме (водоросли, растения, беспозвоночные, рыбы, птицы, млекопитающие). Агентство по защите окружающей среды США требует при определении критериев качества воды, содержащей некий токсикант, определения его токсичности, по крайней мере, на 8 различных видах пресноводных и морских организмов (16 тестов). Неоднократно делались попытки ранжировать виды живых существ по их чувствительности к ксенобиотикам. Однако для различных токсикантов соотношение чувствительности к ним живых существ различно. Более того, использование в экотоксикологии стандартных видов представителей определенных уровней экологической организации для определения экотоксичности ксенобиотиков, с научной точки зрения, не корректно, поскольку чувствительность животных, даже близких видов, порой отличается очень существенно. При оценке экотоксичности необходимо учитывать, что хотя практически все вещества могут вызывать острые токсические эффекты, хроническая токсичность выявляется далеко не у каждого соединения. Косвенной величиной, указывающей на степень опасности вещества при его хроническом действии, является соотношение концентраций, вызывающих острые ($ЛК_{50}$) и хронические (порог токсического действия) эффекты. Если это соотношение менее 10, вещество рассматривается как малоопасное при хроническом воздействии.

При оценке хронической экотоксичности вещества необходимо учитывать следующие обстоятельства:

1) Определение коэффициента опасности является лишь самым первым шагом при определении экотоксического потенциала вещества. В условиях лаборатории пороговые концентрации хронического действия токсикантов определяют, оценивая показатели летальности, роста, репродуктивных способностей группы. Изучение других последствий хронического действия веществ порой может привести к иным числовым характеристикам.

2) Исследования токсичности проводят на животных, пригодных для содержания в условиях лаборатории. Получаемые при этом результаты нельзя рассматривать как абсолютные. Токсиканты могут вызывать хронические эффекты у одних видов, и не вызывать – у других.

3) Взаимодействие токсиканта с биотическими и абиотическими элементами окружающей среды может существенно сказаться на его токсичности в естественных условиях. Однако это не подлежит изучению в условиях лаборатории, а нуждается в полевых исследованиях.

Экстраполяция на человека экспериментальных результатов, полученных в острых и хронических экспериментах на животных, является острой проблемой общей и прикладной (в том числе экологической) токсикологии и смежных дисциплин (гигиены окружающей среды и др.). Рисунок дает представление о взаимосвязи количественных критериев токсичности и опасности ксенобиотиков в различных медико-биологических аспектах экологической безопасности.

Напомним, что эколого-гигиеническая регламентация содержания вредных веществ в объектах окружающей среды предусматривает, как минимум, два этапа:

1) изучение токсических свойств вещества в экспериментальных условиях и обоснование ПДК;

2) проведение эпидемиологических исследований при использовании данного вещества и оценки реакции здоровья населения на него.

Натурные наблюдения на населении рассматриваются как обязательный второй этап нормирования, однако к настоящему времени клинико–гигиеническую апробацию прошло не более 30 химических веществ более чем из 2,5 тысяч, имеющих ПДК.

Рис. Взаимосвязь медико-биологических критериев экологической безопасности (Евстифеева, Ветеркова, 2010)

Рисунок иллюстрирует дозозависимый характер трех основных экотоксикологических процессов. Прямая *C*, идущая практически параллельно оси абсцисс (доз), характерна для аварийных химических ситуаций, сопровождающихся высоким числом пораженных (погибших). Средняя часть зависимости – *B*, отображает линейную зависимость, характерную для токсических и клинических эффектов при изучении или применении ксенобиотиков в экспериментальных дозах. Эти данные применяют при установлении параметров токсикометрии (от среднесмертельной дозы и концентрации до минимально недействующей). Прямая *A* характерна для санитарно-гигиенических регламентов (ПДК). Большинство регистрируемых концентраций ксенобиотиков в

окружающей среде по своей величине находится в районе ПДК. По совокупности они соответствуют оптимальным условиям жизнедеятельности. Таким образом, *S*-образную зависимость доза – эффект можно рассматривать как совокупность трех процессов:

- чрезвычайно-аварийных (*C*),
- токсических (*B*),
- гигиенических (*A*).

Синдром неспецифической повышенной химической восприимчивости. В завершение кратко рассмотрим синдром неспецифической повышенной химической восприимчивости (СПХВ) людей. Лица, у которых диагностируют СПВХ, предъявляют целый спектр жалоб на состояние здоровья, связывая это с высокой восприимчивостью к токсическим веществам, находящимся в окружающей среде, на производстве. У них выявляются признаки нарушений иммунного статуса, некоторые другие отклонения от нормы, в том числе – психические нарушения. Проявления СПХВ возникают при действии разнообразных веществ, как правило, в низких дозах, не вызывающих признаков токсического поражения у большинства людей. Состояние СПХВ относят либо к заболеваниям, вызванным химическими веществами, либо к болезненному состоянию, сопровождающемуся чувством страха и беспокойством по поводу качества окружающей среды. Все это ведет к неуклонному увеличению числа лиц с синдромом ПХВ, росту жалоб и исков физическим и юридическим лицам, а также органам государственной власти.

Дискуссия относительно природы СПХВ длится много лет. Токсикология, изучающая вредное действие веществ на биологические системы, отвечает, в том числе, и за определение условий, обеспечивающих экологическую безопасность как отдельной личности, так и общества в целом. В настоящее время представление о риске для здоровья, имеющемся при контакте с ксенобиотиками, является научной парадигмой и подкреплено нормативными, правовыми и законодательными актами. Однако существующий в обществе на бытовом уровне настрой, как правило, отличается от официальной позиции. Большинство жителей развитых стран, полагает, что риск заболеть вследствие воздействия химических загрязнителей неуклонно возрастает, несмотря на успехи в области охраны окружающей среды. Такая обеспокоенность имеет и веские основания, объясняемые ростом химизации нашей среды обитания, с одной стороны, и отсутствием элементарной токсикологической грамотности у населения – с другой, зачастую «подогреваемым» некорректным освещением в средствах массовой информации проблем химической опасности. Несмотря на то, что факторы, вызывающие ПХВ, как правило, связаны с производственным, бытовым или экологическим воздействием, в большинстве случаев конкретное вещество, вызвавшее ПХВ, остаётся неустановленным. Тем не менее больные убеждены, что состояние их здоровья постоянно ухудшается в связи с условиями труда, быта, региона проживания. Поэтому они часто меняют место жительства, работу. Пытаясь избавиться от действия вредных веществ, некоторые из них переселяются в безлюдные места. Ухудшение самочувствия таких лиц иногда приводит к утрате работоспособности.

Люди, страдающие ПХВ, попадают в зависимость от определенной категории практических врачей, называющих себя «клиническими экологами». В

настоящее время «клиническая экология» основывается на концепции, согласно которой целый спектр веществ, находящихся в окружающей среде в малых количествах, поражает иммунную систему, а это, в свою очередь, провоцирует состояние ПХВ. С этим состоянием связывают нередко встречающиеся жалобы на труднообъяснимые постоянные головные боли, утомление, депрессию, нарушения поведения. Перечень веществ, вызывающих ПХВ, включает различные нефтепродукты, пестициды, детергенты, пищевые добавки, вещества бытовой химии, некоторые газообразные вещества и т.д. Поскольку большинство больных СПХВ не верят традиционным методам диагностики и лечения, вернуть больного к нормальной жизни порой бывает крайне сложно. В литературе описываются больные, лечившиеся у клинических экологов и ставшие вследствие этого настолько беспомощными, что они не могли жить в обычной среде. Эти люди продавали дома, переселялись в чистые регионы, самоизолировались в помещениях, где на них не действовала химия. Они были убеждены в необходимости избегать всего, включая газеты и воздух городов.

В силу значительного расхождения выраженности объективно выявляемых данных и жалоб на состояние здоровья, высказываемых пациентом, некоторые специалисты склонны рассматривать СПХВ как психические или психосоматические расстройства. Особенности личности больных могут сказываться на их отношении к ощущениям, испытываемым практически всеми, в том числе и вполне здоровыми людьми, и на попытке связать эти неблагоприятные ощущения с действием вредной окружающей среды. Вместе с тем, около 78% американцев указывают на наличие у них хотя бы одного из 12 субъективных признаков СПХВ, таких как головные боли, слабость, чувство беспокойства, периодически возникающие сердцебиения и т.д.

Это косвенно указывает более на психические, чем соматические отклонения от нормы страдающих от синдрома ПХВ. Наконец ПХВ может быть следствием ответной реакции на стресс, связанный с реальным воздействием в прошлом химических веществ. Возникшая в результате такого опыта реакция страха может со временем приводить к соматической патологии. При этом у пострадавшего складывается убеждение, что наблюдаемые отклонения от нормы есть последствия действия химических веществ.

Поэтому перед началом лечения средствами традиционной медицины необходимо убедиться в отсутствии реальной соматической патологии. Другая важная задача, стоящая перед врачом – добиться того, чтобы больной без скепсиса относился к предлагаемому лечению. Основные направления терапии включают в себя: ликвидацию стремления пациента избегать контакта с окружающей средой (это невозможно); снижение зависимости от десенситизирующих средств и специальных диет; убеждение в улучшении состояния. Это достигается путем установления доверительных отношений с пациентом; выбором некоторых объективных критериев, по которым больной мог бы оценивать состояние своего здоровья; широким использованием методов психотерапии для снижения состояния напряженности и страха; реальной терапией, выявляемых недугов. СПХВ – это актуальная проблема экотоксикологии XXI века, с которой человечеству еще предстоит справиться.

ГЛОССАРИЙ

Абсорбция – элиминация антител нежелательных специфичностей из антисыворотки при добавлении к ней АГ-материала, не содержащего АГ, против которого получена данная антисыворотка. В основе абсорбции лежит реакция АГ – АТ. Методом абсорбции широко пользуются при производстве моноспецифических антисывороток и других глобулиновых препаратов.

Авидность антител – свойства антител, определяющие степень их сродства к АГ и характеристика прочности связывания комплекса АГ – АТ. Антитела, образующиеся на первичное введение АГ, обладают большим авидитетом и характеризуются высокой специфичностью. Повторная иммунизация приводит к уменьшению авидности АТ. Авидность возрастает при избытке АГ, так как молекула может формировать множественные связи с АГ.

Агглютинация – феномен специфического склеивания корпускулярных частиц (эритроцитов, бактерий, частиц полистирола и др.) и их выпадения в осадок, в результате склеивания с АТ.

Агглютинины – антитела, вызывающие агрегацию или агглютинацию нерастворимого антигена в результате избирательного связывания с определенными химическими группировками.

Агрегированный риск – вероятность развития вредного для здоровья эффекта в результате поступления одного химического вещества в организм человека всеми возможными путями (синоним: комплексное поступление).

Адаптация – приспособление организма к изменяющимися условиям окружающей среды (особенно химическим), которое происходит без каких-либо необратимых нарушений данной биосистемы и без превышения нормальных (гомеостатических) способностей ее реагирования, т.е. когда после определенного периода воздействия реакция на токсические вещества (обычно имеющие низкую концентрацию) полностью или навсегда исчезает и не может быть обнаружена с помощью различных функциональных нагрузок или дополнительных широких исследований.

Адъювант – вещество, усиливающее активность АГ при смешивании с ним.

Аллерген – вещество, вызывающее аллергическую реакцию у человека или животного. К аллергенам могут относиться пыльца растений, споры грибов, химические и промышленные соединения и т.п.

Аллергия – реактивность организма, специфически измененная после контакта с аллергеном. Этот термин может быть отнесен к повышенной чувствительности или иммунитету. В зависимости от времени развития аллергические реакции делятся на немедленные (проявляющиеся через 15–20 мин), замедленно-немедленные (проявляющиеся через 4–6 ч) и замедленные (проявляющиеся через 24–48 ч после поступления аллергена). В зависимости от характера повреждения тканей выделяют 6 типов аллергических реакций (по Джеллу и Кумбсу).

Анализ риска – процесс получения информации, необходимой для предупреждения негативных последствий для здоровья населения, состоящий из трех компонентов: оценка риска, управление риском, информирование о риске.

Антигенная детерминанта – эпитоп: малое трехмерное образование (выпячивание) на молекуле АГ, образующее пространственную конфигурацию за счет остатков молекул аминокислот, углеводов или липидов, которая и является фактическим местом присоединения молекулы антитела. Молекула АГ может иметь на своей поверхности несколько структурно отличающихся АГ детерминант, способных индуцировать образование различных по специфичности АТ. Общее число детерминант на молекуле определяет валентность АГ.

Антигены – вещества белковой природы с характерными химическими группировками (антигенными детерминантами), которые воспринимаются организмом как чужеродные и индуцируют специфический иммунный ответ. Называются иммуногенами, аллергенами или толерогенами, в зависимости от функциональной роли. АГ могут быть внешними (не входящими в состав клетки), внутренними (составными частями клетки) или открытыми (аутоантигены, не имеющие доступа к антителообразующим тканям).

Антисыворотка – сыворотка, полученная от животных, иммунизированных АГ-препаратами, содержащая антитела.

Антитела – специфические иммуноглобулины (гаммаглобулины), образующиеся в ответ на введение АГ и обладающие способностью специфического с ними связывания. Классифицируются по молекулярной массе, физико-химическим и иммунологическим свойствам. Установлено пять классов иммуноглобулинов: JgA, JgM, JgD, JgE, JgG, различающиеся по происхождению, по локализации в организме, по форме проявления реакции АГ-АТ, по генезу и оптимуму воздействия. Имеют активные центры (участки) на молекуле, соответствующей пространственной конфигурации АГ-детерминанты и реагирующие с АГ. Предполагают, что активный центр АТ состоит из 3–4 аминокислотных остатков. Количество активных центров определяет валентность антитела.

Антителообразующие клетки – клетки, продуценты антител. К ним принадлежат плазматические клетки, из которых наибольшей синтетической активностью характеризуются плазмобласты и незрелые плазматические клетки. Антитела могут продуцировать и лимфоциты, которые способны трансформироваться в плазматические клетки.

Ассимилирующая способность водного объекта – способность водного объекта принимать определенную массу веществ в единицу времени без нарушения норм качества воды в контролируемом створе или пункте водопользования.

Атмосферный воздух – жизненно важный компонент окружающей природной среды, представляющий собой естественную смесь газов атмосферы, находящийся за пределами жилых, производственных и иных помещений.

Атопия – наследственное предрасположение к развитию повышенной чувствительности немедленного типа при контакте с некоторыми АГ, обусловленное JgE.

Аутоантигены – возникают из тканей организма под влиянием различных факторов (ожог, облучение, инфекционное заболевание и т.д.). Они служат причиной образования аутоантител и в дальнейшем – возможного аутоиммунного патологического процесса.

Аутоантитела – антитела, направленные против антигенных детерминант своего организма (аутоантигенов).

Аффинитет – понятие, характеризующее прочность соединения участников реакции АГ – АТ. Например, при иммунизации двумя АГ, содержащими отдельные сходные (но не идентичные) детерминанты, образуемые семейством АТ, обладающих различной реакционной способностью. В результате этого, менее специфичные АТ приобретают возможность давать перекрестные реакции с различными АГ.

Безопасное остаточное количество (БОК) химического вещества в почве – допустимое безопасное для здоровья людей количество (мг/кг) экзогенных химических веществ, содержащихся в почве перед обработкой полей, до выхода сельскохозяйственных рабочих на поля после обработки почвы и в конце вегетационного периода у растений.

Безопасность – высокая вероятность отсутствия вредного эффекта при определенном режиме и условиях воздействия анализируемого химического вещества. На практике соответствует либо отсутствию риска, либо его приемлемым уровням.

Биоаккумуляция Процесс, посредством которого организмы накапливают токсиканты, извлекая их из абиотической фазы (воды, почвы, воздуха) и из пищи (трофическая передача). Результат биоаккумуляции – пагубные последствия как для самого организма (достижение поражающей [С] в критических тканях), так и для организмов, использующих данный вид в качестве пищи. Наилучшие условия для биоаккумуляции соединений обеспечивает водная среда. Гидробионты накапливают вещества в концентрациях, порой в тысячи раз больших, чем содержится в воде

Биодоступность – способность взаимодействовать немеханическим путем с живыми организмами. Как правило, это соединения, находящиеся в газообразном или жидком состоянии, в форме водных растворов, адсорбированные на частицах почвы и различных поверхностях, твердые вещества, но в виде мелкодисперсной пыли (размер частиц < 50 мкм), вещества, поступающие в организм с пищей.

Биоиндикатор (bioindicator) – организм, вид, популяция, сообщество, характеризующиеся специфическими особенностями обитания или указывающие на специфические изменения условий среды

Биоиндикаторы загрязнения (bioindicators of contamination) – 1) организмы, которые поглощают (накапливают) токсические вещества и способны в силу этого быть показателями загрязненности воды данным веществом; 2) организмы, свидетельствующие о загрязненности воды. По набору таких организмов в водоеме судят о качестве воды. В отличие от биомаркеров, биоиндикаторы не могут мгновенно реагировать на изменение экологических условий, т.к. их индикаторными свойствами являются популяционные процессы и процессы в сообществе в целом. Основным преимуществом биоиндикаторов перед биомаркерами является тот факт, что далеко не всегда кратковременное изменение условий, на которое реагирует биомаркеры, приводит к негативным изменениям в популяциях, сообществах и экосистемах.

Биоиндикация (bioindication) – метод определения качества среды обитания организмов по видовому составу и показателям количественного развития видов биоиндикаторов и структуре образуемых ими сообществ.

Биомагнификация – перемещение высоколипофильных химических веществ по пищевым цепям от организмов-жертв, к организмам-консументам, сопровождаемое увеличением концентрации токсиканта в тканях каждого последующего организма – звена пищевой цепи.

Биомаркеры – организмы и их характеристики, которые позволяют диагностировать текущее состояние окружающей среды. В качестве характеристик могут выступать физиологические, биохимические, иммунологические и другие свойства (процессы) организмов.

Биотестирование (bioassay) – процедура установления токсичности среды с помощью тест-объектов, сигнализирующих об опасности независимо от того, какие вещества и в каком сочетании вызывают изменения жизненно важных функций у тест-объектов. Благодаря простоте, оперативности и доступности биотестирование получило широкое признание во всем мире и его все чаще используют наряду с методами аналитической химии.

Биотические индексы – это интегрированные показатели состояния условий среды, рассчитанные на основании балльной оценки различных биоиндикаторов

Бурсы эквивалент – аналог бурсы. Гипотетический первичный или центральный лимфоидный орган (аппендикс, пейеровы бляшки кишечника и др.) млекопитающих, который по аналогии в фабрициевой сумкой птиц, необходим для развития В-лимфоцитов.

В-клетки – лимфоциты, дифференцирующиеся под влиянием фабрициевой сумки или эквивалента бурсы, являются предшественниками плазматических клеток, вырабатывающих АТ. Они несут ответственность за развитие и сохранение гуморального иммунитета.

Внутрикожная проба – внутрикожное введение АГ для подтверждения сенсибилизации. Имеет практическое значение для выявления аллергии. Различают несколько типов внутрикожных проб: реакцию гиперчувствительности замедленного типа, гранулематозную реакцию, комбинированную реакцию.

Водный объект (1) – сосредоточение вод на поверхности суши в формах ее рельефа либо в недрах, имеющие границы, объем и черты водного режима.

Водный объект (2) – природный или искусственный водоем, водоток либо иной объект, постоянное или временное сосредоточение вод в котором имеет характерные формы и признаки водного режима;

Водозабор – комплекс сооружений и устройств для забора воды из водных объектов.

Водоохранная зона – территория, примыкающая к акватории водного объекта, на которой устанавливается специальный режим использования и охраны природных ресурсов и осуществления иной хозяйственной деятельности.

Водопользование – юридически обусловленная деятельность граждан и юридических лиц, связанная с использованием водных объектов.

Водопользователи – граждане, индивидуальные предприниматели, юридические лица, использующие водный объект для любых нужд (в т.ч. для сброса сточных вод).

Водопользователь – гражданин или юридическое лицо, которому предоставлено право пользования водными объектами.

Водопотребитель – гражданин или юридическое лицо, получающее в установленном порядке от водопользователя воду для обеспечения своих нужд.

Водоприемник – водный объект, принимающий (дренирующий) поверхностные и подземные воды с водосбора, включая сточные воды различного происхождения.

Водохозяйственная деятельность – деятельность граждан и юридических лиц, связанная с использованием, восстановлением и охраной водных объектов.

Водохозяйственный участок – часть речного бассейна, имеющая характеристики, позволяющие установить лимиты забора (изъятия) водных ресурсов из водного объекта и другие параметры использования водного объекта (водопользования);

Восстановленная вода – вода, полученная в результате доочистки сточных вод и соответствующая гигиеническим требованиям, предъявляемым к воде, используемой в системах технического водоснабжения.

Вредное (загрязняющее) вещество – химическое или биологическое вещество либо смесь таких веществ, которые содержатся в атмосферном воздухе и которые в определенных концентрациях оказывают вредное воздействие на здоровье человека и окружающую природную среду.

Вредное воздействие на человека – воздействие факторов среды обитания, создающее угрозу жизни или здоровью человека либо угрозу для жизни и здоровья будущих поколений (ст. 1 Федерального закона «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» от 30 марта 1999 г. № 52-ФЗ).

Вредное действие вод – затопление, подтопление и другое вредное влияние вод на определенные территории и объекты.

Вредное физическое воздействие на атмосферный воздух – вредное воздействие шума, вибрации, ионизирующего излучения, температурного и других физических факторов, изменяющих температурные, энергетические, волновые, радиационные и другие физические свойства атмосферного воздуха на здоровье человека и окружающего природную среду.

Вредный эффект для здоровья – изменения в морфологии, физиологии, росте, развитии или продолжительности жизни организма, популяции или потомства, проявляющиеся в ухудшении функциональной способности или способности компенсировать дополнительный стресс, или в повышении чувствительности к воздействиям других факторов среды обитания.

Временно согласованный выброс – временный лимит выброса вредного (загрязняющего) вещества в атмосферный воздух, который устанавливается для действующих стационарных источников выбросов с учетом качества атмосферного воздуха и социально-экономических условий развития соответствующей территории в целях поэтапного достижения установленного предельно допустимого выброса.

Выпуск сточных вод – отведение в водные объекты сточных и дренажных вод с применением специальных сооружений, технических средств и устройств.

Гамма-глобулины – электрофоретически малоподвижные глобулины, обладающие наибольшей молекулярной массой. В гамма-глобулиновой фракции находится большинство АТ. В связи с этим гамма-глобулины подразделяются на иммунные и неспецифические. Гамма-глобулины в виде биопрепаратов используются в медицине и ветеринарии для стимуляции защитных сил организма и создания пассивного иммунитета.

Гаптен – неполный АГ, содержащий минимум одну из групп детерминант АГ. Может специфически реагировать с АТ, но сам не индуцирует образования АТ, если не будет соединен с молекулой носителя (белка). Гаптенами могут быть очень простые и более сложные химические соединения.

Гемолиз (иммунный) – обусловленная АТ, протекающая с участием комплемента in vivo и in vitro деструкция эритроцитарной мембраны, приводящая к выходу гемоглобина из поврежденных эритроцитов. Это явление используется при постановке реакции связывания комплемента и определения АОК.

Гемолитическая система – тест, который используется при постановке связывания комплемента. Представляет собой суспензию эритроцитов барана (ЭБ), сенсибилизированных АТ кроличьей сыворотки против ЭБ. Гемолитическая система необходима для определения гемолитической единицы, которая показывает количество комплемента, достаточное для лизиса всех эритроцитов в одном объеме данной гемолитической системы. Гемолитическая система в реакции связывания комплемента является индикатором. Если комплемент связан комплексом АГ-АТ, то лизиса эритроцитов не происходит. В присутствии комплемента эритроциты лизируются.

Гепарин – быстродействующий природный антикоагулянт, ускоряющий медленно протекающую реакцию взаимодействия антитромбина с тромбином, ведущую к инактивации последнего. Выделяется при анафилактических реакциях и снижает свертывание крови.

Гигиенический норматив качества атмосферного воздуха – критерий качества атмосферного воздуха, который отражает предельно допустимое максимальное содержание вредных (загрязняющих) веществ в атмосферном воздухе и при котором отсутствует вредное воздействие на здоровье человека.

Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ-реакция) – реакция между АГ и сенсибилизированными Т-лимфоцитами с последующим развитием (через 24–48 ч) аллергического воспаления. Клеточная форма аллергической реакции. В основе ее лежит предварительная сенсибилизация с активной специфической стимуляцией лимфоцитов или перенос сенсибилизированных лимфоцитов.

Гиперчувствительность немедленного типа – реакция, возникающая в сенсибилизированном организме (через 10–20 мин) после контакта аллергена со специфическими АТ (JgE) и сопровождающаяся развитием аллергического воспаления.

Гистамин – вещество, выделяемое в основном тучными клетками организма при взаимодействии АГ и АТ. В этой связи гистамин считают основной причиной, приводящей к тяжелым расстройствам в организме при анафилактических реакциях.

Глобулины – фракция сывороточного белка, которую получают методом высаливания. Группа глобулинов гетерогенна, все они нерастворимы в воде, растворимы в слабых растворах солей, щелочей и кислот. Различают α-, β-, γ-глобулины. В глобулиновых фракциях сыворотки крови находятся антитела к различным АГ, обеспечивающие иммунную защиту организма. Глобулины выполняют и транспортную функцию, специфически связываясь со многими продуктами обмена веществ.

Городские сточные воды – смесь бытовых и промышленных сточных вод, допущенных к приему в канализацию в соответствии с требованиями СНиП 2.04.03-85 «Канализация. Наружные сети и сооружения».

Госсанэпиднадзор – деятельность санэпидслужбы по предупреждению, обнаружению и пресечению нарушений законодательства Российской Федерации в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в целях охраны здоровья населения и среды обитания.

Государственная гигиеническая регламентация – определение санитарно-гигиенических и противоэпидемических требований к порядку производства и применения продукции, веществ, материалов на основе результатов проведенных токсиколого-гигиенических исследований или научного анализа имеющейся в достаточном объеме информации (включая разрешение, ограничение или запрещение их производства и применения), установление предельно допустимых уровней содержания и (или) воздействия вредных веществ, факторов среды обитания человека и методов контроля в целях предотвращения их неблагоприятного воздействия на его организм.

Детерминанты – участки белковой природы, характеризующиеся определенным пространственным расположением пептидных цепей. Конформационные детерминанты в значительной мере определяют специфичность иммунного ответа. Денатурация АГ приводит к изменению его иммунологической специфичности.

Доза – основная мера экспозиции, характеризующая количество химического вещества, воздействующее на организм.

Доочистка сточных вод – комплекс методов и приёмов, выходящих за пределы общепринятых этапов механической и биологоческой очистки сточных вод, направленных на достижение нормативного качества воды.

Допустимая суточная доза (ДСД) – количество вещества в воде, воздухе, почве или продуктах питания в пересчете на массу тела (мг/кг массы тела), которое может поступать в организм раздельно или комплексно ежедневно на протяжении всей жизни без заметного риска для здоровья.

Допустимое остаточное количество (ДОК) химического вещества – это установленное допустимое остаточное количество вещества в продуктах питания (мг/кг).

Допустимый уровень воздействия – численное значение абиотического показателя состояния водного объекта, при котором соблюдаются требования по целевому использованию водного объекта и/или сохраняется экологически допустимый уровень;

Единичный риск – верхняя доверительная граница дополнительного пожизненного риска, обусловленного воздействием химического вещества в концентрации 1 мкг/м^3 (ингаляция загрязненного воздуха) или 1 мкг/л (по-

ступление с питьевой водой). Представляет собой риск на одну единицу концентрации.

Естественные ксенобиотические профили (ЕКП) – сформировались в ходе эволюционных процессов, миллионы лет протекавших на планете. Различны в разных регионах Земли.

Зависимость «доза – ответ» – корреляция между уровнем экспозиции (дозой) и долей экспонированной популяции, у которой развился специфический эффект.

Зависимость «доза – эффект» – связь между дозой и степенью выраженности эффекта в экспонированной популяции.

Зависимость «экспозиция – ответ» – связь между воздействующей дозой (концентрацией), режимом, продолжительностью воздействия и степенью выраженности, распространенности изучаемого вредного эффекта в экспонируемой популяции.

Загрязнение атмосферного воздуха – поступление в атмосферный воздух или образование в нем вредных (загрязняющих) веществ в концентрациях, превышающих установленные государством гигиенические и экологические нормативы качества атмосферного воздуха.

Загрязнение водных объектов – сброс или поступление иным способом в водные объекты, а также образование в них вредных веществ, которые ухудшают качество поверхностных и подземных вод, ограничивают использование либо негативно влияют на состояние дна и берегов водных объектов.

Загрязняющее вещество – вещество или смесь веществ, количество и/или концентрация которых в воде превышают установленные для химических веществ, иных веществ и микроорганизмов нормативы и оказывают негативное воздействие на окружающую среду;

Захоронение отходов – изоляция отходов, не подлежащих дальнейшему использованию, в специальных хранилищах в целях предотвращения попадания вредных веществ в окружающую природную среду.

Здоровье – состояние полного физического, душевного и социального благополучия, а не только отсутствие болезней и физических дефектов.

Зона биологического действия ($Z_{b.ef}$) – отношение средней смертельной концентрации к порогу хронического действия, CL_{50}/Lim_{ch}.

Зона начального разбавления – относительное расстояние между оголовками рассеивающего выпуска.

Зона острого действия (Z_{ac}) – отношение средней смертельной концентрации к порогу острого действия CL_{50}/Lim_{ac}.

Зона рекреации водного объекта – водный объект или его участок с прилегающим к нему берегом, используемый для отдыха.

Зона санитарной охраны – территория и акватория, на которых устанавливается особый санитарно-эпидемиологический режим для предотвращения ухудшения качества воды источников централизованного питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения и охраны водопроводных сооружений.

Зона хронического действия (Z_{ch}) – отношение порога хронического действия к порогу острого действия Lim_{ac}/Lim_{ch}.

Зона рекреации водного объекта – водный объект или его участок с прилегающим к нему берегом, используемый для отдыха.

Зона санитарной охраны – территория и акватория, на которых устанавливается особый санитарно-эпидемиологический режим для предотвращения ухудшения качества воды источников централизованного питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения и охраны водопроводных сооружений.

Иммунного ответа гены – Ir-гены (от immune response gene) – аутосомно-доминантные гены, которые контролируют способность организма к специфическому иммунному ответу. Ir-гены эффективны в отношении специфических функций Т-лимфоцитов, контролируя так называемые тимусзависимые образования АТ (клетки-помощники) и клеточно-опосредованный иммунитет. При этом продуценты Ir-генов, являются специфическими рецепторами на Т-лимфоцитах.

Иммунный ответ – совокупность реакций организма (как системы), возникающих в результате специфического взаимодействия клеток его иммунной системы с АГ. Характеризуются морфологическими, биохимическими и физиологическими сдвигами в иммунокомпетентных тканях, органах, системах. В иммунном ответе кооперируют три основных типа клеток (макрофаги, Т-лимфоциты и В-лимфоциты).

Иммуноглобулины – группа белков глобулинов сыворотки крови, обладающая свойствами антител. У человека установлено 5 классов иммуноглобулинов: JgA, JgM, JgD, JgE, JgG.

Иммунотоксикология – наука, изучающая действие ксенобиотиков на иммунную систему. Чувствительность клеток-мишеней иммунной системы, характер экспозиции, дозировка, механизм воздействия ксенобиотиков и ответ иммунной системы являются основные факторами, ответственными за конечные эффекты, оказываемые экологическими и антропогенными факторами окружающей среды.

Индекс опасности – сумма коэффициентов опасности для веществ с однородным механизмом действия или сумма коэффициентов опасности для разных путей поступления химического вещества.

Индивидуальный риск – оценка вероятности развития неблагоприятного эффекта у экспонируемого индивидуума, например, риск развития рака у одного индивидуума из 1000 лиц, подвергавшихся воздействию (риск 1 на 1000 или $1 \cdot 10^{-3}$). При оценке риска, как правило, оценивается число дополнительных по отношению к фону случаев нарушений состояния здоровья, т.к. большинство заболеваний, связанных с воздействием среды обитания, встречаются в популяции и при отсутствии анализируемого воздействия (например, рак).

Интегрированная оценка риска – процесс совместного анализа рисков, связанных с множеством источников, воздействующих факторов и маршрутов воздействия на человека, биоту или экологические ресурсы, с выделением определенной приоритетной области анализа.

Искусственный (антропогенный) водный объект – водный объект, созданный человеком для обеспечения его социальных потребностей в местах, где ранее постоянный водный объект отсутствовал;

Использование водных объектов – получение различными способами пользы от водных объектов для удовлетворения материальных и иных потребностей граждан и юридических лиц.

Использование отходов – применение отходов для производства товаров (продукции), выполнения работ, оказания услуг или для получения энергии.

Источник загрязнения вод – источник, вносящий в поверхностные или подземные воды загрязняющие вещества, микроорганизмы или тепло.

Источник загрязнения точечный – объект антропогенной деятельности, сточные воды которого содержат загрязняющие вещества, микроорганизмы или тепло и отводятся в водный объект сосредоточенным потоком с применением специальных сооружений или устройств.

Источник загрязнения вод – источник, вносящий в поверхностные или подземные воды загрязняющие вещества, микроорганизмы или тепло.

Канцерогенный потенциал (фактор наклона, фактор канцерогенного потенциала, SF) – мера дополнительного индивидуального канцерогенного риска или степень увеличения вероятности развития рака при воздействии канцерогена. Определяется как верхняя 95%-ная доверительная граница наклона зависимости «доза – ответ» в нижней линейной части кривой. Единица измерения: 1/мг/(кг × день) или мг/(кг × день)$^{-1}$.

Канцерогенный риск – вероятность развития злокачественных новообразований на протяжении всей жизни человека, обусловленная воздействием потенциального канцерогена. Канцерогенный риск представляет собой верхнюю доверительную границу дополнительного пожизненного риска.

Канцерогенный эффект – возникновение новообразований при воздействии факторов окружающей среды.

Качество атмосферного воздуха – совокупность физических, химических и биологических свойств атмосферного воздуха, отражающих степень его соответствия гигиеническим и экологическим нормативам качества атмосферного воздуха.

Качество воды (1) – характеристика состава и свойств воды, определяющая пригодность ее для конкретных видов водопользования и/или экологического благополучия водной экосистемы на основе соответствия установленным нормативам качества.

Качество воды (2) – характеристика состава и свойств воды, определяющая пригодность ее для конкретных видов водопользования.

КВИО (коэффициент возможности ингаляционного отравления) – отношение максимально достижимой концентрации вредного вещества при 20°С (C^{20}) к средней смертельной концентрации (CL_{50}) устанавливается для мышей.

Кларк химического вещества – среднее мировое содержание химического вещества в естественной незагрязненной почве (литосфере). Например, один кларк свинца составляет $1{,}0 \cdot 10^{-3}$% или 10 мг на 1 кг абсолютно сухой почвы (это среднее мировое содержание свинца в девственных эталонных почвах).

Клеточный иммунитет – иммунитет, опосредованный клетками. Специфический иммунитет, медиаторами которого служат малые лимфоциты. Это тимусзависимые клетки, называемые Т-клетками в отличие от тимуснезави-

симых В-клеток. Включает разнообразные изменения в клетках тканей, принимающих участие в иммунологических реакциях и повышающих устойчивость к инфекции. Например, при формировании реакции гиперчувствительности замедленного типа.

Кожные пробы – один из методов диагностики, применяемых в экспериментальной и клинической иммунологии, для оценки иммунологической реактивности организма путем аппликации АГ на/в кожу.

Компенсация – приспособление организма к изменяющимся условиям среды (особенно химическим), обусловленное возникновением стрессов в биосистеме, которые превышают пределы обычных гомеостатических возможностей. Компенсация является временно скрытой патологией, которая со временем может обнаруживаться в виде явных патологических изменений (декомпенсации).

Комплемент – система, состоящая из 20 гетерогенных белков (С-факторов) и составляющая около 10% глобулиновой фракции сыворотки крови, находится в неактивной форме в виде отдельных компонентов С1–С9 и регуляторных белков. Известно два пути активации комплемента: классический – в присутствии комплекса АГ – АТ и агрегированных иммуноглобулинов; и альтернативный путь – индуцируется поверхностными структурами микроорганизмов при отсутствии комплекса АГ – АТ. Методы определения активности комплемента основаны на способности продуктов его активации индуцировать лизис (гемолиз) АГ. В качестве единицы измерения комплемента используется 50%-ная единица (CH_{50})% количество комплемента, вызывающее 50%-ный лизис 0,5 мл стандартной суспензии ЭБ при 37^0С в течение 1 часа.

Комплемента титр – конечное разведение комплементсодержащей сыворотки, которое вызывает разрушение сенсибилизированных эритроцитов. Готовят ряд последовательных разведений сыворотки, содержащей комплемент, и находят разведение, при котором данная сыворотка вызывает разрушение определенного количества ЭБ при определенной температуре (37^0С) за определенное время (1 ч).

Контроль качества воды – проверка соответствия показателей качества воды установленным нормам и требованиям.

Контрольные показатели воды – характерные показатели состава и свойств воды, подлежащие контролю при проверке соблюдения установленных норм качества воды в водном объекте, контрольном створе или точке. к количественным и качественным показателям относятся расход воды, скорость течения, глубина водного объекта, температура воды, *p*Н, БПК и др.

Контрольный створ – поперечное сечение водного потока, в котором контролируется качество воды.

Коэффициент опасности (*HQ*) – отношение воздействующей дозы (или концентрации) химического вещества к его безопасному (референтному) уровню воздействия.

Критерии качества воды – признак, по которому производится оценка качества воды по видам водопользования.

Ксенобиотики (1) – чужеродные для организмов химические вещества, естественно не входящие в биотический круговорот, способные нарушить естественный ход природных процессов в экосистемах.

Ксенобиотики (2) – чужеродные для организмов химические вещества, которые поступая в организм животных и растений, не используются как источники энергии или пластический материал, но, действуя в достаточных дозах и концентрациях, способны существенно модифицировать течение нормальных физиологических процессов.

Ксенобиотический профиль биогеоценоза – совокупность чужеродных веществ, содержащихся в окружающей среде (воде, почве, воздухе и живых организмах) в форме (агрегатном состоянии), позволяющей им вступать в химические и физико-химические взаимодействия с биологическими объектами экосистемы.

Кумулятивный риск – вероятность развития вредного эффекта в результате одновременного поступления в организм всеми возможными путями химических веществ, обладающих сходным механизмом действия.

Лизоцим – вещество, относящееся к группе ферментов (мурамидаза) и обладающее бактерицидным действием. Обнаруживается в различных тканях организма, особенно в тканях, вовлеченных в воспалительный процесс. Лизоцим находится в большом количестве в яйцах птиц, в слюне, в нейтрофилах и макрофагах. При их повреждении лизоцим поступает в окружающие ткани и плазму крови из неповрежденных макрофагов и лейкоцитов. Угнетает реакции отторжения трансплантатов у кроликов и мышей. Является неспецифическим фактором естественной резистентности организма.

Лимит на размещение отходов – предельно допустимое количество отходов конкретного вида, которые разрешается размещать определенным способом на установленный срок в объектах размещения отходов с учетом экологической обстановки на данной территории.

Лимитирующий показатель вредности – признак, характеризующийся наименьшей безвредной концентрацией загрязняющего вещества.

Лимиты водоотведения – предельно допустимые объемы сброса сточных вод, которые устанавливаются водопользователю на определенный срок, исходя из норм отведения сточных вод и состояния водного объекта.

Лимиты на выбросы и сбросы веществ и микроорганизмов – ограничения сбросов загрязняющих веществ и микроорганизмов в окружающую среду, установленные на периоды проведения мероприятий по охране окружающей среды, в том числе внедрения наилучших существующих технологий, в целях достижения нормативов качества.

Маршрут воздействия – путь химического вещества от источника его образования и поступления в окружающую среду до экспонируемого организма. Включает в себя источник загрязнения окружающей среды, первично загрязняемые среды, транспортирующие среды, непосредственно воздействующие на человека среды и все возможные пути поступления химического вещества в организм.

Митогены – вещества, обладающие способностью стимулировать лимфоциты, индуцировать реакцию бласттрансформации, деление и митоз клеток. Известны митогены, действующие специфически на В-клетки (липополисаха-

риды, грамотрицательные бактерии, конканавалин А), на Т-лимфоциты (фитогемагглютинин-лектин, полученный из красных бобов), а также действующие одновременно как на Т-, так и на В-клетки (митоген лаконоса).

Мониторинг атмосферного воздуха – система наблюдений за состоянием атмосферного воздуха, его загрязнением и за происходящими в нем природными явлениями, а также оценка и прогноз состояния атмосферного воздуха, его загрязнения.

Мониторинг воздействия – компонент управления риском, предусматривающий действия, предпринимаемые для динамического контроля уровней экспозиции вредного фактора.

Мониторинг экспозиций и рисков – один из компонентов управления риском – процесс, заключающийся в принятии решений и действиях по динамическому или периодическому контролю уровней экспозиций и рисков.

Мутагены – вещества, вызывающие генные мутации. К мутагенам относят ряд химических соединений (HNO_2, бромурацил), ультрафиолетовые лучи, ионизирующую радиацию (рентгеновские лучи).

Мыши (CBA x C57Bl)$_{F1}$ – гибриды первого поколения инбредных линий мышей CBA и C57Bl (черных).

Мыши Balb/c – инбредная (полученная в результате последовательных близкородственных скрещиваний) линия белых мышей, для которых характерно развитие плазмоцитом (опухолей костной ткани) после в/б инъекции минерального масла.

Мыши CBA – инбредная линия мышей с типичной окраской диких мышей, характеризующихся высокой частотой возникновения спонтанных опухолей молочной железы, обусловленных вирусом. Среди этой линии мышей существует много сублиний, например, CBA/H-2^{к}, гомозиготных по генетически выявленному H-2^{к}маркеру, используемых в экспериментальной и клинической иммунологии.

Наименьший уровень воздействия, **при котором наблюдается вредный эффект (LOAEL) –** наименьшая доза (концентрация) химического вещества, при воздействии которой наблюдается вредный эффект.

Неблагоприятные метеорологические условия – метеорологические условия, способствующие накоплению вредных (загрязняющих) веществ в приземном слое атмосферного воздуха.

Неблагоприятный (вредный) эффект – изменения в морфологии, физиологии, росте, развитии или продолжительности жизни организма, популяции или экологической системы, проявляющиеся в ухудшении функциональной способности или способности компенсировать дополнительный стресс, или в увеличении чувствительности к другим воздействиям факторов окружающей среды.

Негативное воздействие на водный объект – воздействие на него хозяйственной и иной деятельности, в результате которого происходят нарушения устойчивого состояния экологической системы водного объекта и/или ухудшение условий комплексного использования водного объекта или его части (участка);

Неопределенность – ситуация, обусловленная несовершенством знаний о настоящем или будущем состоянии рассматриваемой системы. Характеризует

частичное отсутствие или степень надежности сведений об определенных параметрах, процессах или моделях, используемых при оценке риска. Неопределенность в конечном итоге определяет надежность и достоверность оценок риска и может быть уменьшена путем дополнительных исследований или измерений.

Неуправляемые источники загрязнения – диффузные источники загрязнения, управление которыми на современном этапе технически неосуществимо или малоэффективно.

Нецентрализованное питьевое и хозяйственно-бытовое водоснабжение – использование подземных или поверхностных водоисточников для питьевых и бытовых нужд при помощи водозаборных устройств без разводящей водопроводной сети.

Норма водопотребления – установленное количество воды на одного жителя или на условную единицу, характерную для данного производства.

Норма отведения сточных вод – объем сточных вод в интервале времени от одного потребителя на единицу вырабатываемой продукции.

Норма расхода экзогенных химических веществ (ЭХВ) – это количество ЭХВ (кг/га), которое вносят в почву для достижения экономического, агрохимического, почвоведческого и других эффектов, на которые рассчитан этот препарат.

Норматив образования отходов – установленное количество отходов конкретного вида при производстве единицы продукции.

Нормативно-очищенные сточные воды – сточные воды, отведение которых после очистки в водные объекты не приводит к нарушению норм качества воды в контролируемом створе или пункте водопользования.

Нормативы допустимых воздействий на водные объекты (НДВ) – нормативы, которые установлены в соответствии с показателями совокупного воздействия всех источников хозяйственной и иной деятельности на водные объекты и при которых соблюдаются нормативы качества вод.

Нормативы допустимых сбросов (НДС) химических веществ, в том числе радиоактивных, иных веществ и микроорганизмов – нормативы, которые установлены для субъектов хозяйственной и иной деятельности в соответствии с показателями массы химических веществ, в том числе радиоактивных, иных веществ и микроорганизмов, допустимых для поступления в окружающую среду от источников загрязнения в установленном режиме, при соблюдении которых обеспечиваются нормативы качества окружающей среды.

Нормативы качества вод – нормативы, которые установлены в соответствии с физическими, химическими, биологическими и иными показателями и при соблюдении которых удовлетворяются нормативные требования использования по приоритетным видам водопользования, обеспечивается устойчивое функционирование естественных водных экологических систем и сохраняется биологическое разнообразие.

Нормативы предельно допустимых концентраций химических веществ, в том числе радиоактивных, иных веществ и микроорганизмов – нормативы, которые установлены в соответствии с показателями предельно допустимого содержания химических веществ, в том числе радиоактивных, иных веществ и микроорганизмов в окружающей среде и несоблюдение кото-

рых может привести к загрязнению окружающей среды, деградации естественных экологических систем.

Нормируемые загрязняющие вещества – загрязняющие вещества, по которым устанавливаются нормативы допустимых сбросов и лимиты на выбросы и сбросы загрязняющих веществ.

Нормы качества воды – установленные значения показателей качества воды по видам водопользования.

Нормы состава сточных вод – перечень веществ, содержащихся в сточных водах, и их концентрации, установленные нормативно-технической документацией.

Нормы качества воды – установленные значения показателей качества воды по видам водопользования.

Обезвреживание отходов – обработка отходов, в том числе сжигание и обеззараживание отходов на специализированных установках, в целях предотвращения вредного воздействия отходов на здоровье человека и окружающую природную среду.

Обеззараживание сточных вод – обработка сточных вод с целью удаления из них патогенных и санитарно-показательных микроорганизмов.

Обращение с отходами – деятельность, в процессе которой образуются отходы, а также деятельность по сбору, использованию, обезвреживанию, транспортированию и размещению отходов.

Объект размещения отходов – специально оборудованное сооружение, предназначенное для размещения отходов (полигон, шламохранилище, хвостохранилище, отвал горных пород и др.).

Овальбумин – яичный альбумин. Используется для иммунизации подопытных животных.

Окружающая среда – совокупность компонентов природной среды, природных и природно-антропогенных объектов, а также антропогенных объектов. Природная среда – совокупность компонентов природной среды, природных и природно-антропогенных объектов.

Опасность – совокупность свойств фактора среды обитания человека (или конкретной ситуации), определяющих их способность вызывать неблагоприятные для здоровья эффекты при определенных условиях воздействия.

Опасные отходы – отходы, которые содержат вредные вещества, обладающие опасными свойствами (токсичностью, взрывоопасностью, пожароопасностью, высокой реакционной способностью) или содержащие возбудителей инфекционных болезней, которые могут представлять непосредственную или потенциальную опасность для окружающей природной среды и здоровья человека самостоятельно или при вступлении в контакт с другими веществами.

Ориентировочно-допустимые концентрации (ОДК) химического вещества – временный гигиенический норматив максимально допустимого содержания ЭХВ в почве (мг/кг), определяемый расчетным методом (устанавливаются для ЭХВ, допущенных к опытно-производственному применению, находящихся на стадии государственных производственных испытаний). ОДК пересматриваются через 3 года после их утверждения или заменяются ПДК, полученными на основе экспериментальных данных.

Ориентировочный безопасный уровень воздействия (ОБУВ) – временный ориентировочный гигиенический норматив вредного вещества, устанавливаемый на период, предшествующий проектированию производства путем расчета по параметрам токсикометрии.

Ориентировочный допустимый уровень (ОДУ) – временный гигиенический норматив, разрабатываемый на основе расчетных и экспресс-экспериментальных методов прогноза токсичности и применяемый только на стадии предупредительного санитарного надзора за проектируемыми или строящимися предприятиями, реконструируемыми очистными сооружениями.

Отходы производства и потребления – остатки сырья, материалов, полуфабрикатов, иных изделий или продуктов, которые образовались в процессе производства или потребления, а также товары (продукция), утратившие свои потребительские свойства.

Охрана атмосферного воздуха – система мер, осуществляемых органами государственной власти Российской Федерации, органами государственной власти субъектов Российской Федерации, органами местного самоуправления, юридическими и физическими лицами в целях улучшения качества атмосферного воздуха и предотвращения его вредного действия на здоровье человека и окружающую среду.

Охрана вод от загрязнения – система мер, направленных на предотвращение, ограничение и устранение последствий загрязнения.

Оценка качества вод – установление через систему показателей соответствия качества вод пригодности для использования согласно требованиям водопользования.

Оценка риска для здоровья – процесс установления вероятности развития и степени выраженности неблагоприятных последствий для здоровья человека или здоровья будущих поколений, обусловленных воздействием факторов среды обитания.

Оценка сравнительной значимости рисков – этап характеристики риска, предусматривающий определение сравнительной значимости выявленных опасностей и рассчитанных рисков для здоровья экспонируемой популяции. Включает также ранжирование опасных факторов, источников загрязнения окружающей среды, воздействующих сред, путей поступления химических веществ в организм, а также поражаемых органов/систем.

Паспорт опасных отходов – документ, удостоверяющий принадлежность отходов к отходам соответствующего вида и класса опасности, содержащий сведения об их составе.

Поверхностные сточные воды (дождевые, талые, поливомоечные) – воды, поступающие в водный объект с загрязненной урбанизированной территории по самостоятельной сети дождевой канализации в результате выпадения атмосферных осадков, полива и мойки территории.

Поверхностный водоем – поверхностный водный объект, представляющий собой сосредоточение вод с замедленным водным обменом в естественных или искусственных впадинах.

Поверхностный водоток – поверхностный водный объект с непрерывным движением вод.

Подземные водные объекты – сосредоточение вод в недрах, имеющее границы, объем и черты водного режима.

Подземные воды – воды, в том числе и минеральные, находящиеся в подземных водных объектах.

Популяционный риск – агрегированная мера ожидаемой частоты вредных эффектов среди всех подвергшихся воздействию людей (например, четыре случая заболевания раком в год в экспонируемой популяции).

Попуск – регулируемый сброс воды из водохранилища, обеспечивающий целевое назначение водотока, расположенного в нижнем бьефе (санитарный, экологический и др.) или уровень воды в самом водохранилище;

Порог действия вредного вещества – такая минимальная концентрация его в объекте внешней среды, при воздействии которой в организме (при конкретных условиях поступления вещества) возникают изменения, выходящие за пределы физиологических приспособительных реакций, или скрытая (временно компенсированная) патология. В связи с этим полезно привести определения понятий *адаптация* и *компенсация* в контексте токсикологических исследований.

Порог однократного (острого) специфического действия вредного вещества (Lim_{sp}) – минимальная концентрация (доза), вызывающая изменение биологических функций отдельных органов и систем организма, которые выходят за пределы приспособительных физиологических реакций.

Порог однократного острого действия вредного вещества (Lim_{ac}) – минимальная концентрация (доза), вызывающая изменение биологических параметров на уровне целостного организма, которые выходят за пределы приспособительных физиологических реакций.

Порог хронического действия вредного вещества (Lim_{ch}) – минимальная концентрация, вызывающая вредное действие в хроническом эксперименте по 4 часа 5 раз в неделю на протяжении не менее 4 месяцев.

Потенциально опасные экотоксиканты – как правило, вещества, устойчивые к процессам разрушения и длительно персистирующие в окружающей среде.

Предельно допустимая (критическая) нагрузка – показатель воздействия одного или нескольких вредных (загрязняющих) веществ на окружающую природную среду, превышение которого может привести к вредному воздействию на окружающую природную среду.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) вредного вещества в атмосферном воздухе населенных мест – это максимальная его концентрация, отнесенная к определенному периоду осреднения (30 мин, 24 ч, 1 месяц, 1 год), которая при регламентированной вероятности ее появления не оказывает прямого или косвенного вредного действия на организм человека, его потомство и санитарные условия жизни.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) вредного вещества в воде водоемов рыбохозяйственного назначения – максимально допустимая концентрацию вещества (или его метаболитов) в воде, при которой в водном объекте не возникают последствия, снижающие его рыбохозяйственную ценность (в ближайшее время и в перспективе) или затрудняющие его рыбохозяйственное использование при постоянстве этой концентрации в воде водного объекта.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) вредного вещества в почве – максимальное его количество (исчисляемое в миллиграммах на килограмм пахотного слоя почвы), установленное в экстремальных почвенно-климатических условиях, которое гарантирует отсутствие прямого или опосредованного отрицательного влияния на здоровье человека, самоочищающую способность почвы и соприкасающиеся с почвой среды.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) экзогенных химических веществ (ЭХВ) в почве – максимальное количество вещества (в мг/кг пахотного слоя абсолютно сухой почвы), которое при прямом контакте с человеком (загрязнение кожи, слизистой оболочки глаз, верхних дыхательных путей, глотки) или опосредованно по одному из путей миграции по биологическим цепочкам гарантирует отсутствие отрицательного действия на его здоровье или здоровье его потомства, санитарные условия жизни населения и самоочищающую способность почвы.

Предельно допустимая концентрация вредного вещества в воздухе рабочей зоны – это концентрация, которая при ежедневной (кроме выходных дней) работе в течение 8 часов в день или другой продолжительности, но не более 41 часа в неделю, в течение всего рабочего стажа не может вызвать заболеваний или отклонений в состоянии здоровья, обнаруживаемых современными методами исследований в процессе работы или отдаленные сроки жизни настоящего и последующих поколений.

Предельно допустимое вредное воздействие (ПДВВ) – максимальное вредное воздействие различных антропогенных факторов на водный объект, вызывающее негативные последствия и деградацию водоема или угнетение живых организмов или растительности, находящихся в этом водном объекте, превышение которого может вызвать необратимые последствия;

Предельно допустимый выброс – норматив предельно допустимого выброса вредного (загрязняющего) вещества в атмосферный воздух, который устанавливается для стационарного источника загрязнения атмосферного воздуха с учетом технических нормативов выбросов и фонового загрязнения атмосферного воздуха как максимальный выброс (данного источника), не приводящий к нарушению гигиенических и экологических нормативов качества атмосферного воздуха, предельно допустимых (критических) нагрузок на экологические системы, других национальных экологических нормативов.

Предельно допустимый риск – верхняя граница приемлемого риска, превышение которой требует применения дополнительных мер по его снижению.

Предельно допустимый сброс в водный объект (ПДС) – масса веществ или микроорганизмов в сточных водах, максимально допустимая к отведению с установленным режимом в данном пункте водного объекта в единицу времени с целью обеспечения нормы качества воды в контрольном створе.

Предельно допустимый уровень внесения (ПДУВ) химических веществ в почву – это предельно допустимое безопасное для здоровья людей количество (кг/га) химического вещества, вносимое в почву в начале ее обработки.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) вредного вещества в воде – максимальная концентрация вещества в воде, в которой вещество при ежедневном поступлении в организм в течение всей жизни не оказывает

прямого или опосредованного влияния на здоровье населения в настоящем и последующих поколениях, а также не ухудшает гигиенических условий водопользования.

Преципитация – образование комплексов АГ-АТ из растворимых АГ и соответствующих АТ (иммуноглобулинов).

Приемлемый риск – уровень риска развития неблагоприятного эффекта, который не требует принятия дополнительных мер по его снижению и оцениваемый как независимый, незначительный по отношению к рискам, существующим в повседневной деятельности и жизни населения.

Природное экологическое состояние поверхностных вод – состав характеристик компонентов воды и донных отложений природных водных объектов, который существовал или может существовать при условии отсутствия или незначительного влияния человеческой деятельности.

Природный водный объект – естественный водный объект с экологической системой, сохранившей свои природные свойства.

Природопользователь – предприятия, организации, а также граждане Российской Федерации, иностранные юридические лица и граждане, лица без гражданства, осуществляющие любые виды деятельности на территории Российской Федерации, связанные с природопользованием.

Размещение отходов – хранение и захоронение отходов.

Распространение информации о риске (коммуникация о риске) – элемент анализа риска, предусматривающий взаимный обмен информацией между специалистами по оценке риска, лицами, принимающими управленческие решения, средствами массовой информации, заинтересованными группами и широкой общественностью.

Региональное нормирование – установление безопасных уровней содержания загрязняющих веществ в объектах окружающей среды с учетом природно-климатических особенностей водных объектов данного региона и сложившейся в результате хозяйственной деятельности природно-техногенной обстановки;

Региональное нормирование – установление безопасных уровней содержания химических веществ в объектах окружающей среды на основе допустимой суточной дозы (ДСД) с учетом реальной химической обстановки в результате хозяйственной деятельности (отрасли промышленности, применяемые в сельском хозяйстве ядохимикаты и т.п.) и других особенностей данного региона (например, характер питания).

Резистентность естественная – повышенная устойчивость организма к инфекции, обусловленная не активной иммунизацией, а его биологическими особенностями. Показателями естественной резистентности сыворотки крови служат активность комплемента, пропердина, лизоцима, бактерицидная активность сыворотки крови и др.

Рекреационное водопользование – использование водного объекта или его участка для купания, занятия спортом и отдыха.

Референтная доза/концентрация – суточное воздействие химического вещества в течение всей жизни, которое устанавливается с учетом всех имеющихся современных научных данных и, вероятно, не приводит к возникновению неприемлемого риска для здоровья чувствительных групп населения.

Синонимы: допустимое суточное поступление (ADI), переносимое суточное поступление (TDI), руководящий уровень (GV), рекомендуемые показатели допустимого воздействия на здоровье (HA), прогнозируемый неэффективный уровень для человека (PNEL), уровень минимального риска (MRL), рекомендуемый уровень воздействия (REL).

Риск – вероятность причинения вреда жизни или здоровью граждан, имуществу физических или юридических лиц, государственному или муниципальному имуществу, окружающей среде, жизни или здоровью животных и растений с учетом тяжести этого вреда (ст. 2 Федерального закона Российской Федерации «О техническом регулировании» № 184-ФЗ от 27 декабря 2002 г.). Данное определение интегрирует несколько разноплановых понятий о риске (для здоровья, экологический, повреждений имущества), что соответствует совокупному риску.

Риск для здоровья – вероятность развития угрозы жизни или здоровью человека либо угрозы жизни или здоровью будущих поколений, обусловленная воздействием факторов среды обитания.

Риск нарушения санитарно-эпидемиологического благополучия населения – вероятность негативных изменений состояния здоровья населения или состояния здоровья будущих поколений, а также нарушений благоприятных условий жизнедеятельности человека (включая ухудшение условий и качества жизни, возникновение дискомфортных состояний и др.), обусловленная воздействием факторов среды обитания. Данное понятие имеет комплексный характер и включает в себя не только собственно риск для здоровья, но и другие виды рисков (например, снижения качества жизни; развития дискомфортных состояний, непосредственно не связанных с изменениями практического здоровья человека и т.д.).

Самоочищение вод – совокупность природных гидрологических, химических и биологических процессов, протекающих в водных объектах и направленных на восстановление первоначальных свойств и состава воды.

Санитарно-эпидемиологический контроль – деятельность санэпидслужбы по проверке соответствия санитарно-эпидемиологическим правилам, нормам и нормативам как неотъемлемая часть государстенного санитарно-эпидемиологического надзора.

Сенсибилизация – аллергизация, иммунологический процесс, который развивается под влиянием аллергена и может приводить к развитию различных типов аллергий.

Состояние водного объекта – характеристика водного объекта по совокупности его количественных и качественных показателей применительно к видам водопользования.

Социально-гигиенический мониторинг – государственная система наблюдений за состоянием здоровья населения и среды обитания, их анализа, оценки и прогноза, а также определения причинно-следственных связей между состоянием здоровья населения и воздействием факторов среды обитания.

Специфические ингредиенты – совокупность химических соединений техногенного происхождения, обнаруживаемых в сточных водах в результате применения на промышленных предприятиях реагентной обработки сточных вод, а также трансформации исходных химических веществ.

Специфичность – лежащая в основе реакции АГ-АТ, избирательность (стерическая и химическая возможность узнавания) компонентов реакции. Является основополагающим биологическим феноменом, предпосылкой реакции АГ-АТ, определяет аффинитет в иммунологической реакции.

Сравнительная оценка риска – процесс сравнительной характеристики выраженности и значимости различных по своей природе и происхождению неблагоприятных эффектов (влияние на здоровье, условия и качество жизни, качество окружающей среды, сельскохозяйственное производство и т.д.), осуществляемый с целью установления приоритетов среди широкого круга проблем, связанных с окружающей средой. Обычно проводится на основе экспертных заключений и (или) сравнительного экономического анализа ущербов.

Среда обитания человека – часть окружающей среды, включая ее природные компоненты (атмосферный воздух, воду, почву), а также питьевая вода, продовольственные и промышленные товары, условия труда, быта (жилище, места отдыха, транспортные средства), обучения и воспитания.

Среда обитания человека (среда обитания) – совокупность объектов, явлений и факторов окружающей (природной и искусственной) среды, определяющая условия жизнедеятельности человека.

Среднесуточная доза/концентрация (ADD/ADC) – потенциальная суточная доза/концентрация, усредненная за период воздействия химического вещества. Период усреднения для хронических воздействий обычно принимается равным: для взрослых – 30 лет, для детей в возрасте до 6 лет – 6 лет.

Среднесуточная пожизненная доза/концентрация (LADD/LARC) – потенциальная суточная доза/концентрация, усредненная за весь период жизни человека. Период усреднения экспозиции для канцерогенов обычно принимается равным 70 годам.

Средняя смертельная концентрация (CL_{50}**)** – концентрация вызывающая гибель 50% подопытных животных при ингаляционном воздействии вещества при определенной экспозиции (4 часа – крысы, 2 часа – мыши) и определенном (14 суток) сроке последующего наблюдения.

Створ начального разбавления – поперечное сечение потока, отстоящее от оголовка рассеивающего выпуска на величину длины зоны начального разбавления.

Сценарий воздействия – описание специфических условий экспозиции; совокупность фактов, предположений и заключений о воздействии оцениваемого вредного фактора. Сценарий экспозиции может включать несколько маршрутов воздействия.

Сыворотка крови – жидкая фаза крови, формирующаяся после ретракции кровяного сгустка, имеющая большое количество неорганических и органических соединений, в том числе белков, представленных в основном глобулинами и альбуминами. Сыворотка крови обладает бактерицидной, опсонической, бактериологической активностью, а белки сыворотки – видовой специфичностью. Сыворотку крови исследуют с диагностическими, а также применяют с терапевтическими целями.

Тест-объект (test organism) – организм, используемый при оценке токсичности химических веществ, природных и сточных вод, почв, донных отложений, кормов и др.

Тест-функция (test function) – жизненная функция или критерий токсичности (toxicity criterion), используемые в биотестировании для характеристики отклика тест-объекта на повреждающее действие среды.

Технический норматив выброса – норматив выброса вредного (загрязняющего) вещества в атмосферный воздух, который устанавливается для передвижных и стационарных источников выбросов, технологических процессов, оборудования и отражает максимально допустимую массу выброса вредного (загрязняющего) вещества в атмосферный воздух в расчете на единицу продукции, мощности, пробега транспортных или иных передвижных средств и другие показатели.

Техническое регулирование – правовое регулирование отношений в области установления, применения и исполнения обязательных требований к продукции, процессам производства, эксплуатации, хранения, перевозки, реализации и утилизации, а также в области установления и применения на добровольной основе требований к продукции, процессам производства, эксплуатации, хранения, перевозки, реализации и утилизации, выполнению работ или оказанию услуг и правовое регулирование отношений в области оценки соответствия.

Технологический норматив – норматив допустимых сбросов веществ и микроорганизмов, который устанавливается для стационарных, передвижных и иных источников, технологических процессов, оборудования и отражает допустимую массу сбросов веществ и микроорганизмов в окружающую среду в расчете на единицу выпускаемой продукции.

Тимус – вилочковая железа, железа внутренней секреции, расположенная за грудиной.

Т-лимфоциты – (тимусзависимые) лимфоциты. Развитие осуществляется в вилочковой железе, или тимусе, куда из костного мозга мигрируют их предшественники. Ответственны за реализацию клеточного иммунитета. Подразделяются на субпопуляции: Т-хелперы ($CD4^+$ Т-клетки), т.е. помощники и цитотоксические Т-лимфоциты, или Т-киллеры ($CD8^+$ Т-клетки).

Токсикодинамика (от токсико… и греч. dynamis – сила) – раздел токсикологии об эффектах, возникающих в организме под влиянием яда. Токсикодинамика занимается изучением механизмов, лежащих в основе токсического действия различных химических веществ, закономерностей формирования токсического процесса, его проявлений под влиянием яда.

Токсикокинетика (от токсико... и греч. kinetikos – приводящий в движение, движущий) – раздел токсикологии, в рамках которого изучаются закономерности резорбции, распределения, биотрансформации ксенобиотиков в организме и их элиминации.

Токсикометрия (toxicometry) – совокупность приемов количественной оценки токсичности веществ.

Токсикорезистентность (toxin resistance) – сопротивляемость живых организмов воздействию токсических веществ.

Токсичность (toxicity) – свойство химических веществ проявлять повреждающее или летальное действие на живые организмы. Вещество, оказывающее токсическое действие, называется токсикантом, а процесс воздействия токсиканта на организм – токсикацией (на экосистему – токсификацией). Количественно токсичность вещества для отдельного организма определется как величина, обратная средней летальной концентрации: $T = 1/LC_{50}$.

Токсичность водной среды (toxicity of water environment) – токсичность воды и донных отложений для гидробионтов, возникающая вследствие появления в ней токсических веществ природного или антропогенного происхождения (ксенобиотиков), загрязнения сточными водами, токсическими атмосферными осадками и пр. При возникновении токсичности водной среды вода из среды, поддерживающей жизнь, становится средой, губительной для жизни. Степень токсичности водной среды оценивается методами биотестирования, а также по превышению ПДК (предельно допустимых концентраций).

Токсичность воды – способность воды вызывать нарушения жизнедеятельности водных организмов за счет присутствия в ней вредных веществ;

Токскиты (TOXKIT®) – новое поколение биотестов, разработанных в лаборатории экологической токсикологии и водной экологии (LETAE), Университет Гент, Бельгия под руководством проф. G. Persoone (http://www.microbiotests.be/). Токскиты предназначены для проведения исследований острой токсичности природных сред и содержат все обходимые материалы для выполнения биотестирования или экотоксикологических исследований (тест-организмы в анабиотическом состоянии, эфиппиумы дафний (resting eggs), покоящиеся яйца коловраток, яйца артемии, культуры водорослей). Toxkit® реализуются вместе со всеми необходимыми приспособлениями, посудой и средами культивирования.

Токсобность (toxobity) – способность водных организмов существовать в токсической среде, сорбируя или используя определенное количество токсического вещества

Толерантности диапазон – пределы колебаний концентраций токсических веществ, при которых не происходит нарушений функций организма.

Толерантность – иммунологический паралич, неспособность к иммунологическому ответу к одному антигену (АГ). Переносимость иммунологической системой чужеродных АГ, на которые не развивается реакция. При развитии иммунитета организма на каждый АГ-стимул, как правило, отвечает реакциями клеточно-опосредованного или гуморального иммунитета. Если АГ введен в организм до созревания иммунной системы или в сформировавшийся организм в очень малых дозах (или в очень больших), вместо иммунного ответа развивается состояние специфической иммунологической неотвечаемости, при этом не отменяется полноценный ответ на другие антигены.

Толерантность (tolerance) – выносливость (устойчивость) организма к повреждающим воздействиям.

Трансграничное перемещение отходов – перемещение отходов с территории, находящейся под юрисдикцией одного государства, на территорию (через территорию), находящуюся под юрисдикцией другого государства, или в район, не находящийся под юрисдикцией какого-либо государства, при

условии, что такое перемещение отходов затрагивает интересы не менее чем двух государств.

Трансграничное загрязнение атмосферного воздуха – загрязнение атмосферного воздуха в результате переноса вредных (загрязняющих) веществ, источник которых расположен на территории иностранного государства.

Тяжелые металлы: свинец, медь, цинк, никель, кадмий, кобальт, ртуть, мышьяк, хром,сурьма.

Управление риском – процесс принятия решений, включающий рассмотрение совокупности политических, социальных, экономических медико-социальных и технических факторов совместно с соответствующей информацией по оценке риска с целью разработки оптимальных решений по устранению или снижению уровней риска, а также способам последующего контроля (мониторинга) экспозиций и рисков.

Управляемые источники загрязнения – точечные и диффузные источники загрязнения, чьи количественные и качественные характеристики могут регулироваться посредством технических средств на современном этапе;

Уровень воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект (NOAEL) – наивысшая доза, при которой не наблюдается вредного эффекта (аналогичен термину «максимальная недействующая доза/концентрация»).

Ущерб (вред) здоровью человека – наблюдаемое или ожидаемое нарушение состояния здоровья человека или состояния здоровья будущих поколений, обусловленное воздействием факторов среды обитания. Ущерб характеризуется медико-социальной значимостью наблюдаемых или ожидаемых негативных последствий для жизни или здоровья человека и (или) будущих поколений, а также частотой случаев негативных последствий и их стоимостными оценками.

Фагоцитоз – поглощение корпускулярных частиц (бактерий, чужеродных и собственных отмирающих клеток, инертных частиц и др.) в основном макрофагами и нейтрофилами. Активный физиологический процесс начинается с адсорбции частицы клеточной мембраной (иммуноприлипание) и оканчивается ее внутриклеточным перевариванием или инкапсуляцией. Зависит от иммунного и физиологического статуса организма.

Факторы риска – факторы, провоцирующие или увеличивающие риск развития определенных заболеваний; некоторые факторы могут являться наследственными или приобретенными, но в любом случае их влияние проявляется при определенном воздействии.

Факторы среды обитания – биологические (вирусные, бактериальные, паразитарные и иные), химические, физические (шум, вибрация, ультразвук, инфразвук, тепловые, ионизирующие, неионизирующие, и иные излучения), социальные (питание, водоснабжение, условия быта, труда, отдыха) и иные факторы среды обитания, которые оказывают или могут оказывать воздействие на человека и (или) на состояние будущих поколений.

Фон природный региональный – значение показателей качества воды водных объектов, сформировавшееся под влиянием природных факторов, характерных для конкретного региона, или с учетом антропогенных факторов, имеющих площадное распространение и действующих в течение длительного периода, не являющееся вредным для сложившихся водных экосистем.

Фоновое значение для выпуска отдельного водопользователя – рассчитываемая применительно к данному источнику примесей концентрация загрязняющих веществ в фоновом створе водного объекта при расчетных гидрологических условиях, учитывающая влияние всех источников примесей за исключением данного источника.

Фоновое значение показателей качества воды – значение показателей качества воды водоема или водотока до влияния на него источника загрязнения.

Фоновый створ – контрольный пункт, расположенный выше по течению от сброса загрязняющих веществ.

Характеристика риска – завершающий этап оценки риска, на котором синтезируются данные, полученные на предшествующих этапах исследований, проводится расчет и ранжирование рисков, источников их образования, воздействующих сред и путей поступления химических веществ в организм, а также анализ всех неопределенностей для обоснования выводов и рекомендаций, необходимых для управления риском.

Хранение отходов – содержание отходов в объектах размещения отходов в целях их последующего захоронения, обезвреживания или использования.

Целевые показатели качества воды (ЦПКВ) – показатели качества воды водного объекта или его части, характеризующие состав и концентрацию химических веществ, микроорганизмов и другие показатели качества воды в водных объектах, которые устанавливаются с учетом природных особенностей бассейна, условий целевого использования водных объектов, реальной социально-экономической ситуации и должны поддерживаться или быть достигнуты в течение определенного временного интервала по завершении предусматриваемых СКИОВО (схема комплексного использования и охраны водных объектов) водоохранных и водохозяйственных мероприятий.

Централизованная система питьевого и хозяйственно-бытового водопользования – комплекс инженерных сооружений для забора, подготовки, транспортировки и подачи потребителю питьевой воды.

Централизованная система питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения – комплекс инженерных сооружений для забора, подготовки, транспортирования и подачи потребителю питьевой воды.

Экологическая оценка качества воды – отнесение вод к определенному классу и категории согласно системе экологических классификаций на основании анализа значений показателей ее состава и свойств.

Экологическая система – природный и/или природно-антропогенный комплекс, образованный живыми организмами и средой их обитания, в которой живые и неживые компоненты связаны между собой обменом вещества и энергии.

Экологически допустимый уровень (ЭДУ) – граничные значения диапазона абиотических факторов, при которых сохраняется нормальное функционирование водной экосистемы.

Экологический норматив качества атмосферного воздуха – критерий качества атмосферного воздуха, который отражает предельно допустимое максимальное содержание вредных (загрязняющих) веществ в атмосферном воздухе и при котором отсутствует вредное воздействие на окружающую природную среду.

Экологический риск – вероятность наступления события, имеющего неблагоприятные последствия для природной среды и вызванного негативным воздействием хозяйственной или иной деятельности, чрезвычайными ситуациями природного и техногенного характера (ст. 1 Федерального закона «Об охране окружающей среды» № 7-ФЗ от 10 января 2002 г.).

Экологическое благополучие водного объекта – нормальное воспроизведение водных биологических ресурсов экологической системы водного объекта.

Экологическое состояние поверхностных вод – характеристика абиотических и биотических компонентов воды и донных отложений, которые свойственны экосистемам определенных типов водных объектов

Экополлютанты (загрязнители) – химические вещества, накапливающиеся в среде в несвойственных ей количествах и являющиеся причиной изменения естественных ксенобиотических профилей.

Экотоксикант – экополлютант, накопившийся в среде в количестве, достаточном для инициации токсического процесса в биоценозе (на любом уровне организации живой материи).

Экотоксикодинамика – раздел экотоксикологии, изучающий конкретные механизмы развития и формы токсического процесса, вызванного действием экотоксикантов на биоценоз и/или отдельные виды, его составляющие.

Экотоксикокинетика – раздел экотоксикологии, изучающий судьбу ксенобиотиков (экополлютантов) в окружающей среде. В круг ее задач входят: рассмотрение источников появления ксенобиотиков; распределение их в абиотических и биотических элементах окружающей среды; превращение ксенобиотика в среде обитания; элиминацию из окружающей среды.

Экотоксикометрия – раздел экотоксикологии, в рамках которого рассматриваются методические приемы позволяющие оценить (перспективно или ретроспективно) экотоксичность ксенобиотиков.

Экотоксичность – способность данного ксенобиотического профиля среды вызывать неблагоприятные эффекты в соответствующем биоценозе.

Экспозиция (уровень воздействия) – контакт организма (рецептора) с химическим, физическим или биологическим агентом.

Эффективность проведения мероприятий, направленных на устранение или снижение риска здоровью – медико-социальная и экономическая оценка последствий, связанных со снижением величины наблюдаемого или ожидаемого ущерба (вреда), обусловленного негативным воздействием факторов среды обитания.

ЛИТЕРАТУРА

Алексеева, О.Г. Аллергия к промышленным химическим соединениям / О.Г. Алексеева, Л.А. Дуева. – М.: Медицина, 1978. – 242 с.

Альберт, Э. Избирательная токсичность / Э. Альберт. – М.: Мир, 1971. – 431 с.

Батян, А.Н. Основы общей и экологической токсикологии / А.Н. Батян, Г.Т. Фрумин, В.Н. Базылев. – СПб.: СпецЛит, 2009. – 352 с.

Башкин, В.Н. Оценка риска при расчетах критических нагрузок на экосистемы. Тяжелые металлы в окружающей среде / В.Н. Башкин. – Пущино: ОНТИ НББИ, 1997. – С. 172–181.

Безель, В.С. Популяционная экотоксикология млекопитающих / В.С. Безель. – М.: Наука. 1987. – 129 с.

Безель, В.С. Экологическая токсикология: популяционный и биоценотический аспекты / В.С. Безель. – Екатеринбург: Изд-во «Гощицкий», 2006. – 280 с.

Безель, В.С. Популяционная экотоксикология / В.С. Безель, В.Н. Большаков, Е.Л. Воробейчик. – М.: Наука, 1994. – 80 с.

Безель, В.С. Экотоксикология: учеб. для вузов / В.С. Безель, М.С. Панин; под общ. ред. А.Г. Сармурзиной. – Алматы: Раритет, 2008. – 344 с., 65 табл., 106 ил.

Беленький, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. – Л.: Медицина, 1963. – С. 81–147.

Брагинский, Л.П. Теоретические аспекты проблемы «норма – патология» в водной токсикологии / Л.П. Брагинский // Теоретические вопросы водной токсикологии. – Л.: Наука, 1981. – С. 29–40.

Булгаков, Н.Г. Индикация состояния природных экосистем и нормирование факторов окружающей среды: обзор существующих подходов / Н.Г. Булгаков // Успехи совр. биол. – 2002. – Т. 122. – № 2. – С. 115–135.

Ваганов, П.А. Как рассчитать риск угрозы здоровью из-за загрязнения окружающей среды / П.А. Ваганов. – СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2008. – 129 с.

Ваганов, П.А. Экологические риски / П.А. Ваганов, Ман-Сунг Им. – СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2001. – 152 с.

Вернадский, В.И. Заметки о распределении химических элементов в земной коре. Избр. соч. / В.И. Вернадский. – М.: АН СССР, 1954. – Т. 1. – 401 с.

Воробейчик, Е.Л. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем / Е.Л. Воробейчик, О.Ф. Садыков, М.Г. Фарафонтов. – Екатеринбург: УИФ «Наука», 1994. – 279 с.

Галактионов, В.Г. Очерки эволюционной иммунологии / В.Г. Галактионов. – М.: Мир, 1995. – 422 с.

Гелашвили, Д.Б. Методические проблемы применения биологических тест-объектов в экоаналитике / Д.Б. Гелашвили, А.А. Туманов, М.Е. Безруков и др. // Журнал аналитической химии. – 1999. – Т. 54. – №. 9. – С. 909–917.

Гигиена окружающей среды / Под ред. Г.И. Сидоренко. – М.: Медицина, 1985. – 303 с.

Голубев, А.А. Количественная токсикология / А.А. Голубев, Е.Н. Люблина, Н.А. Толоконцев и др. – М.: Медицина, 1975. – 287 с.

Гончарук, Е.И. Гигиеническое нормирование химических веществ в почве / Е.И. Гончарук, Г.И. Сидоренко. – М.: Медицина, 1986. – 320 с.

Грищенко, А.И. Экология. Нефть и газ / А.И. Грищенко, Г.С. Акопова, В.М. Максимов. – М.: Наука, 1997. – 598 с.

Добровольский, В.В. Геохимия микроэлементов. Глобальное рассеяние / В.В. Добровольский. – М.: Мысль, 1983. 271 с.

Дуева, Л.А. Промышленные аллергены / Л.А. Дуева, В.Ю. Коган, С.В. Суворов и др. – М.: Центр междунар. проектов Госкомприроды СССР, 1989. – 203 с.

Жмур, Н.С. Государственный и производственный контроль токсичности вод методами биотестирования в России / Н.С. Жмур. – М.: Междунар. дом сотрудничества, 1997. – 117 с.

Жолдакова, З.И. Прогноз пороговой дозы хронического действия веществ по результатам подострых опытов / З.И. Жолдакова, Г.Н. Красовский // Гигиена и санитария. – 1993. – №° 3. – С. 47–50.

Жолдакова, З.И. Единые подходы к оценке токсичности и опасности химических веществ, поступающих в организм с воздухом, водой и пищей / З.И. Жолдакова, О.О. Синицына // Рос. хим. журн. – 2004. – Т. XLVIII. – № 2. – С. 25–33.

Жолдакова, З.И. Прогноз опасности веществ по зависимости структура – биотрансформация – активность / З.И. Жолдакова, Н.В. Харчевникова // Рос. хим. журн. – 2004. – Т. XLVIII. – № 2. – С. 16–24.

Западнюк, И.П. Лабораторные животные. Разведение и содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк и др.. – Киев: Высш. школа, 1983. – 383 с.

Захаров, В.М. Здоровье среды: методика оценки / В.М. Захаров, А.С. Баранов, В.И. Борисов и др. – М.: Центр экологической политики России, Центр здоровья среды, 2000. – 68 с.

Иванов, В.В. Геохимическая экология элементов. Справочник. Кн. 1 / В.В. Иванов. – М.: Недра, 1994. – 305 с.

Йегер, Л. (Jager L.) Структура и функция иммунной системы. Клиническая иммунология и аллергология. В 3 т. / Л. Йегер (L. Jager). – М.: Медицина, 1990. – Т. 1. – С. 17–60.

Иларионов, С.А. Роль микромицетов в фитотоксичности нефтезагрязненных почв / С.А. Иларионов, А.В. Назаров, И.Г. Калачникова // Экология. – 2003. – № 5. – С. 241–246.

Иммунологические методы исследований / Под ред. И. Лефковитса, Б. Перниса. – М.: Мир, 1988. – 530 с.

Исидоров, В.А. Введение в химическую экотоксикологию / В.А. Исидоров. – СПб.: Химиздат, 1999. – 144 с.

Кабата-Пендиас, А. Микроэлементы в почвах и растениях / А. Кабата-Пендиас, Х. Пендиас. – М.: Мир, 1989. – 430 с.

Каган, ЮГ. Коэффициент кумуляции как количественный показатель кумулятивного действия ядов / Ю.Г. Каган // Фармакология и токсикология. Сб. науч. работ. – Киев: Здоров'я, 1964. – Т. 1. – С. 231–237.

Кацнельсон, Б.Т. Гигиенические идеи Н.В. Лазарева и современные проблемы взаимодействия человека и биосферы / Б.Т. Кацнельсон, В.С. Безель // Гигиена и санитария. – 1995. – № 25. – С. 14–17.

Коптюг, В.А. Конференция ООН по окружающей среде и развитию. Чем грозит России игнорирование ее выводов? // Химия в интересах устойчивого развития. – 2006. – Т. 14. – № 3. – С. 205–212.

Красовский, Г.Н. О методах изучения кумулятивных свойств токсических веществ / Г.Н. Красовский, А.А. Королев, С.А. Шиган // Гигиена и санитария. – 1970. – № 3. – С. 83–87.

Криволуцкий, Д.А. Динамика биоразнообразия и экосистем в условиях радиоактивного загрязнения. Гл. 3 / Д.А. Криволуцкий // Доклады АН. – 1996. – Т. 347. – № 4. – С. 567–569.

Криволуцкий, Д.А. Радиоэкология сообществ наземных животных / Д.А. Криволуцкий. – М.: Энергоатомиздат, 1983. – 88 с.

Кузнецов, А.Е. Прикладная экобиотехнология / А.Е. Кузнецов, Н.Б. Градова, С.В. Лушников и др. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – Т. 2. – 485 с.

Курляндский, Б.А. Стратегические подходы к обеспечению безопасности производства и использования химических веществ для здоровья человека / Б.А. Курляндский // Российский химич. журнал. – 2004. –Т. XLVIII. – № 2. – С. 8–15.

Куценко, С.А. Основы токсикологии / С.А. Куценко. – СПб.: Медицина, 2002. – 166 с.

Лазарев, Н.В. Введение в геогигиену / Н.В. Лазарев. – М.: Наука, 1966. – 322 с.

Лазарев, Н.В. Общие основы промышленной токсикологии / Н.В. Лазарев. – М.-Л.: Медгиз, 1938. – 388 с.

Левич, А.П. Теоретические и методические основы технологии регионального контроля природной среды по данным экологического мониторинга / А.П. Левич, Н.Г. Булгаков, В.Н. Максимов. – М.: НИА-Природа, 2004. – 271 с.

Линик, П.Н. Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах / П.Н. Линник, Б.И. Набиванец. – Л.: Гидрометеоиздат, 1986. – 273 с.

Лозановская, И.Н. Экология и охрана биосферы при химическом загрязнении / И.Н. Лозановская, Д.С. Орлов, Л.К. Садовникова. – М.: Высш. школа, 1998. – 287 с.

Методы определения токсичности и опасности химических веществ / Под ред. И.В. Саноцкого. – М., Медицина, 1970. – 343 с.

Микроэлементы в окружающей среде: биогеохимия, биотехнология и биоремидиация / Под ред. М.Н.В. Прасада, К.С. Саджвана, Р. Найду; перевод с англ. канд. биол. наук. Д.И. Башмакова и д-ра биол. наук А.С. Лукаткина. – М.: Физматлит, 2009. – 816 с.

Моисеенко, Т.Н. Экотоксикология / Т.Н. Моисеенко, А.Д. Шалабодов, С.Н. Гашев, А.В. Соромотин // Вестник Томского госун-та. – 2011. – № 12. – С. 6–16.

Обухова, Л.М. Оценка токсичности отходов методом клиновидной дегидратации / Л.М. Обухова, М.Е. Безруков // Токсикологический вестник. – 2009. – № 3. – С. 30–34.

Общая токсикология / Под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова – М.: Медицина, 2002. – 606 с.

Остроумов, С.А. Введение в биохимическую экологию / С.А. Остроумов. – М.: Изд-во МГУ, 1986. – 176 с.

Петросян, В.С. Химические бумеранги и здоровье населения России / В.С. Петросян // Вестник РАЕН. – 2005. – Т. 5. – № 3. – С. 58–64.

Покаржевский, А.Д. Геохимическая экология наземных животных / А.Д. Покаржевский – М.: Наука, 1985. – 298 с.

Ройт, А. Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. – М.: Мир, 2000. – 581 с.

Саноцкий, И.В. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений / И.В. Саноцкий, И.П. Уланова. – М.: Медицина, 1975. – 325 с.

Сапин, М.Р. Иммунная система человека / М.Р. Сапин, Л.Е. Этинген. – М.: Медицина, 1996. – 302 с.

Сапин, М.Р. Лимфатический узел / М.Р. Сапин, Н.А. Юринга, Л.Е. Этинген. – М.: Медицина, 1978. – 272 с.

Сидоров, К.К. О некоторых методах количественной оценки кумулятивного эффекта / К.К. Сидоров // Токсикология новых промышленных химических веществ. Вып. 9. – Л.: Медицина, 1967. – С. 19–27.

Сидоров, П.И. Системный мониторинг ракетно-космической деятельности / П.И. Сидоров, С.Л. Совершаева, Н.В. Скребцова / Под общ. ред. П.И. Сидорова. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 224 с., ил.

Тимофеев-Ресовский, Н.В. Биосфера и человечество / Н.В. Тимофеев-Ресовский / Научн. труды Обнинского отд. геогр. общества СССР. Сб. 1. – Обнинск, 1968. – Ч. 1. – С. 3–12.

Федоров, Л.А. Пестициды – токсический удар по биосфере и человеку / Л.А. Федоров, А.В. Яблоков. – М.: Наука, 1999. – 460 с.

Филенко, О.Ф. Задачи и приемы биотестирования токсичности водной среды / О.Ф. Филенко / Методы биотестирования качества водной среды. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – С. 3–9.

Филов, В.А. Химические загрязнители окружающей среды, токсикология и вопросы информации / В.А. Филов, Б.А. Ивин // Российский химич. журнал. – 2004. – Т. XLVIII. – № 2. – С. 4–7.

Флёров, Б.А. Биотестирование: термины, задачи, перспективы / Б.А. Флёров / Теоретические вопросы биотестирования. – Волгоград: Ин-т биол. внутр. вод АН СССР, 1983. – С. 13–20.

Худолей, В.В. Токсикология диоксинов / В.В. Худолей. – М., 2000.

Черкинский, С.Н. Методические вопросы санитарно-токсикологических исследований по гигиеническому нормированию вредных веществ в воде водоемов / С.Н. Черкинский, Т.Н. Красовский, В.Н. Тугаринова // Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. Вып. 6. – М., 1964. – С. 290–300.

Шляхтин, Г.В. Опыт эксплуатации системы биологического мониторинга на объекте по уничтожению химического оружия в Саратовской области / Г.В. Шляхтин, Е.В. Завьялов, Т.В. Перевозникова // Известия Самарского НЦ РАН. – 2007. – № 1. – С. 250–254.

Штабский, Б.М. Учение о кумуляции и его применение в профилактической токсикологии / Б.М. Штабский // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2013. – Ч. 1. – № 2 (32). – С. 8–20.

Штабский, Б.М. Учение о кумуляции и его применение в профилактической токсикологии / Б.М. Штабский // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2013. – Ч. 2. – № 3 (33). – С. 8–15.

Шуйский, В.Ф. Изоболический метод оценки и нормирования многофакторных антропогенных воздействий на пресноводные экосистемы по состоянию макрозообентоса / В.Ф. Шуйский, Т.В. Максимова, Д.С. Петров. – М.: Изд-во МАНЭБ, 2004. – 304 с.

Экологический мониторинг опасных производственных объектов: опыт создания и перспективы развития (на примере систем экологического контроля и мониторинга объектов по уничтожению химического оружия). Монография / Под общ. ред. проф. В.Н. Чуписа. – М.: Научная книга, 2010. – 526 с.

Экологический мониторинг. Методы биологического и физико-химического мониторинга. Ч. III: учеб. пособие / Под ред. проф. Д.Б. Гелашвили. – Н. Новгород: Изд-во ННГУ, 1998. – 319 с.

Экологический мониторинг. Методы биологического и физико-химического мониторинга. Ч. IV: учеб. пособие / Под ред. проф. Д.Б. Гелашвили. – Н. Новгород: Изд-во ННГУ, 2000. – 427 с.

Экологический мониторинг. Методы биологического и физико-химического мониторинга. Ч. V: учеб. пособие / Под ред. проф. Д.Б. Гелашвили. – Н. Новгород: Изд-во ННГУ, 2003. – 399 с.

Экологический мониторинг. Методы биологического и физико-химического мониторинга. Ч. VI: учеб. пособие / Под ред. проф. Д.Б. Гелашвили. – Н. Новгород: Изд-во ННГУ, 2006. – 371 с.

Экологический мониторинг. Методы биологического и физико-химического мониторинга. Ч. VII: учеб. пособие / Под ред. проф. Д.Б. Гелашвили. – Н. Новгород: Изд-во ННГУ, 2011. – 211 с.

Экологический мониторинг. Методы биомониторинга. В 2 ч. Ч. I: учеб. пособие / Под ред. проф. Д.Б. Гелашвили. – Н. Новгород: Изд-во ННГУ, 1995. – 192 с.

Экологический мониторинг. Методы биомониторинга. В 2 ч. Ч. II: учеб. пособие / Под ред. проф. Д.Б. Гелашвили. – Н. Новгород: Изд-во ННГУ, 1995. – 272 с.

Экологический мониторинг. Современные проблемы мониторинга пресноводных экосистем. Ч. VIII: учеб. пособие / Под ред. проф. Д.Б. Гелашвили, проф. Г.В. Шургановой. – Н. Новгород: Изд-во ННГУ, 2014. – 374 с.

Ягольницер, М.А. Оценка промышленной эмиссии ртути в Сибири / М.А. Ягольницер, В.М. Соколов, А.Д. Рябцев и др. // Химия в интересах устойчивого развития. – 1995. – № 1–2. С. 23–35.

Carins, J. Ecological toxicity testing: scale, complexity and relevance / J. Carins, B.R. Niederlehner. – Chelsea: Lewis Publishers, Inc., 1995. – M. I. – 222 p.

Chemical Weapons Convention. The Harvard Sussex program on CBW armament and arms limitation. – 1993.

Integrated risk information system (IRIS). Substance list. US EPA // Режим доступа: http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/index.cfim7fuseaction-iris.showSubstanceList

Kammen, D.M. Should we risk it? Exploring environmental, health, and technological problem solving / D.M. Kammen, D.M. Hassenzahk. – Princeton: Princeton University Press, 1999. – 404 p.

Lenian, J.M.A. Activation analysis and public health / Symp. on nucl. activation techniques in the life science / J.M.A. Lenian. – Vienna, 1967. – P. 601.

Lim, R.K. A method for the evoluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses / R.K. Lim, K.C. Runk, H.G. Glass, F. Soaje-Fchague // Arch. inter. pharm. – Ther., 1961. – Vol. 130. – P. 336–352.

Lindquist, L. Influence of life history and sex on metal accumulation in two beetles species (Insecta: Coleoptera) / L. Lindquist, M. Block / Bull. Environ. Contam. and Toxicol. – 1997. – Vol. 58. – № 4. – P. 518–522.

Nyholm, N.E.I. Monitoring of terrestrial environmental metal pollution by ns of free-living insectivorous birds / N.E.I. Nyholm / Annali di chimica. – 1995. – Vol. 85. –P. 343–351.

Nyholm, N.E.I. Influence of heavy metal exposure during different phases of the ontogeny on the development of pied flycatchers, Ficedula hypoleuca, in natural populations / N.E.I. Nyholm // Arch. environ. contam. toxicol. – 1998. – Vol. 35. – P. 632–637.

Sawicka-Kapusta, K. Heavy metals in tits from polluted forests in southern Poland / K. Sawicka-Kapusta, J. Kozlowski, T. Sokolowska // Environ. pollut. (Series A). – l986. – Vol. 42. – P. 297–310.

Sinha, J. Reprogramming bacteria to seek and destroy an herbicide / J. Sinha, J.S. Reyes, J.P. Gallivan // Nature chemical biology. – 2010. – Vol. 6. – P. 464–470.

Shmomura, S. Mercury levels in human hair and sex factor / S. Shmomura, A. Kimura, H. Nakagawa, M. Tokao // Environ. Res. – 1980. – Vol. 22. – P. 22–30.

НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ

Водный кодекс Российской Федерации от 03.06.2006 № 74-ФЗ // Собрание законодательства РФ, 05.06.2006

ВМУ № 250-1163. Временные методические указания по комплексной оценке качества поверхностных и морских вод – М.: Госкомгидромет СССР. 1986. 5 с.

ВМУ № 4681-88. Временные методические указания по обоснованию предельно допустимых концентраций загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. – М.: Минздрав СССР, 1989.

ГН 2.1.5.558-96. ПДК и ОДУ вредных веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования.

ГН 1.1.701-98. Гигиенические критерии для обоснования необходимости разработки ПДК и ОБУВ (ОДУ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест, воде водных объектов. – М.: ИНТЕРСЭН, 1998.

ГН 2.1.7.020-94. Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) тяжелых металлов и мышьяка в почвах. (Дополнение № 1 к перечню ПДК и ОДК № 6229-91).

ГН 2.2.5.2388-08. Аварийные пределы воздействия (АПВ) о-1,2,2-триметилпропилового эфира метилфторфосфоновой кислоты (зомана) в воздухе рабочей зоны объектов хранения и уничтожения химического оружия // Бюллетень нормативных актов федеральных органов исполнительной власти, № 29, 21.07.2008.

ГН 2.2.5.2389-08. Аварийные пределы воздействия (АПВ) о-изопропилового эфира метилфторфосфоновой кислоты (зарина) в воздухе рабочей зоны объектов хранения и уничтожения химического оружия // Бюллетень нормативных актов федеральных органов исполнительной власти, № 30, 28.07.2008.

ГН 1.2.2633-10. Гигиенические нормативы содержания приоритетных наноматериалов в объектах окружающей среды // Бюллетень нормативных актов федеральных органов исполнительной власти, №30, 26.07.2010.

ГОСТ 12.1.007–76. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности – ИУС, № 6, 1990.

ГОСТ 12038–84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – М.: Изд-во стандартов, 1985. 57 с.

ГОСТ 17.2.1.04-77. Источники и метеорологические факторы загрязнения, промышленные выбросы. Термины и определения // Охрана природы. Атмосфера: Сб. ГОСТов. – М.: ИПК Издательство стандартов, 2004.

ГОСТ 17.2.1.03-84. Охрана природы. Атмосфера. Термины и определения контроля загрязнения // Охрана природы. Атмосфера: Сб. ГОСТов. - М.: ИПК Издательство стандартов, 2004.

ГОСТ 17.2.3.01-86. Охрана природы. Атмосфера. Правила контроля качества воздуха населенных мест // Охрана природы. Атмосфера: Сб. ГОСТов. - М.: ИПК Издательство стандартов, 2004.

ГОСТ 17.2.3.02-2014. Охрана природы. Атмосфера. Правила установления допустимых выбросов вредных веществ промышленными предприятиями.

ГОСТ 17.44.02–84. Охрана природы. Почва. Методы отбора и подготовки почв для химического, бактериологического и гельминтологического анализа. – М.: Минздрав России, 1999. 58 с.

ГОСТ 24481-80. Вода питьевая. Отбор проб - М.: Издательство стандартов, 1981.

ГОСТ 17.4.3.01-83. Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб // Охрана природы. Почвы: Сб. ГОСТов. – М.: Стандартинформ, 2008.

ГОСТ 17.4.4.02-84. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа // Охрана природы. Почвы: Сб. ГОСТов. – М.: Стандартинформ, 2008.

ГОСТ 12071-84. Грунты. Отбор, упаковка, транспортирование и хранение образцов. – М.: Издательство стандартов, 1994.

ГОСТ 27753.1-88. Грунты тепличные. Методы отбора проб // Сб. ГОСТов. – М.: Издательство стандартов, 1989.

ГОСТ 28168-89. Почвы. Отбор проб. – М.: Издательство стандартов, 1989.

Кодекс Российской Федерации «Об административных правонарушениях» от 30.12.2001 № 195-ФЗ (ред. от 24.11.2014) (с изм. и доп., вступ. в силу с 06.12.2014).

Критерии отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды. – М.: Минприроды России, 2001.

Критерии санитарно-гигиенического состояния окружающей среды. 1. Ртуть. – М.: Женева. ВОЗ. 1979. 149 с.

Методика разработки нормативов допустимых сбросов веществ и микроорганизмов в водные объекты для водопользователей (утв. Приказом МПР РФ от 17 декабря 2007 г. № 333).

МР. Методические рекомендации по геохимической оценке загрязнения территорий городов химическими элементами. – М.: ИМТРЭ, 1982. 66 с.

МР. Методические рекомендации по экспериментальному изучению иммуно-токсических свойств химических факторов окружающей среды. – М., 1989.

МР № 5174. Методические рекомендации по оценке степени загрязнения атмосферного воздуха населенных мест металлами по их содержанию в снежном покрове и почве. – М.: Минздрав СССР, 1991.

МР № 460-р. Методические рекомендации по выполнению оценки качества среды по состоянию живых существ. Росэкология, 2003.

МУ. Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства. (2-е изд., перераб. и дополн.). – М., 1992.

МУ. Методические указания по разработке схем комплексного использования и охраны водных объектов (СКИОВО) (Утв. Приказом МПР РФ от 4 июля 2007 г. № 169).

МУ. Методические указания по разработке нормативов допустимого воздействия на водные объекты. (Утв. Приказом МПР РФ от 12 декабря 2007 г. № 328).

МУ 4050-85. Постановка экспериментальных исследований по изучению характера комбинированного действия химических веществ с целью разработки профилактических мероприятий. – М., 1987. 47 с.

МУ 1.2.2520-09. Токсиколого-гигиеническая оценка безопасности наноматериалов.

МУ 1.2.2965-11. Порядок медико-биологической оценки действия наноматериалов на лабораторных животных по морфологическим признакам и метаболическим параметрам.

МУ 1.2.2966-11. Порядок и организация контроля за наноматериалами.

МУ 1.2.2967-11. Порядок оценки действия наноматериалов на рыб по морфологическим и генетическим признакам.

МУ 1.2.2873-11. Порядок выявления и идентификации наноматериалов в водных беспозвоночных.

МУ 1.2.2874-11. Порядок выявления и идентификации наноматериалов в лабораторных животных.

МУ 1.2.2875-11. Порядок выявления и идентификации наноматериалов в водоемах.

МУ 1.2.2876-11. Порядок выявления и идентификации наноматериалов в растениях.

МУ 1.2.2877-11. Порядок выявления и идентификации наноматериалов в рыбах.

МУ 1.2.2869-11. Порядок оценки токсического действия наноматериалов на лабораторных животных.

МУ 1.2.2745-10. Порядок отбора проб для характеристики действия наноматериалов на лабораторных животных.

МУ 1.2.2744-10. Порядок отбора проб для выявления и идентификации наноматериалов в рыбах.

МУ 1.2.2743-10. Порядок отбора проб для выявления и идентификации наноматериалов в водных объектах.

МУ 1.2.2742-10. Порядок отбора проб для выявления и идентификации наноматериалов в растениях.

МУ 1.2.2741-10. Порядок отбора проб для выявления и идентификации наноматериалов в лабораторных животных.

МУ 1.2. 2740-10. Порядок отбора проб для выявления, идентификации и характеристики действия наноматериалов в водных беспозвоночных.

МУ 1.2.2638-10. Оценка безопасности контактирующих с пищевыми продуктами упаковочных материалов, полученных с использованием нанотехнологий.

МУ 1.2.2637-10. Порядок и методы проведения контроля миграции наночастиц из упаковочных материалов.

МУ 1.2.2636-10. Проведение санитарно-эпидемиологической экспертизы продукции, полученной с использованием нанотехнологий и наноматериалов.

МУ 1.2.2635-10. Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов.

МУ 1.2.2634-10. Микробиологическая и молекулярно-генетическая оценка воздействия наноматериалов на представителей микробиоценоза.

МУ 2.1.7. 730-88. Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест.

МУ 2.1.7.2297-07. Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности.

МУ 2.1.5.720-98. Обоснование гигиенических нормативов химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования.

ОНД-86. Методика расчета концентрации в атмосферном воздухе вредных веществ, содержащихся в выбросах предприятий. – Л.: Госкомгидромет, 1987.

ОНД-90. Руководство по контролю источников загрязнения атмосферы. Ч. 1 и 2. Минприроды СССР. – М., 1992.

Перечень предельно допустимых концентраций и ориентировочно безопасных уровней воздействия вредных веществ для воды рыбохозяйственных водоемов. – М.: Роскомрыболовство, 1995.

Перечень предельно допустимых концентраций и ориентировочно допустимых количеств (ОДК) химических веществ в почве. № 6229-91. – М.: Минздрав СССР, 1991.

ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.1-96 16.2:2.2.1-96. Токсикологические методы контроля. Методика определения токсичности вод, почв и донных отложений по активности бактерий.

ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.2-98. Методика определения токсичности воды по хемотаксической реакции инфузорий.

Порядок определения ущерба от загрязнения земель химическими веществами. – М.: Госкомэкология России, 1993.

Правила охраны поверхностных вод (Типовые положения). – М.: Госкомприроды СССР, 1991.

Правила проведения паспортизации отходов I–IV классов. (Утв. Постановлением Правительства РФ от 16.08.2013 № 712).

Предельно допустимые концентрации химических веществ в почве (ПДК). – М.: Минздрав СССР, 1979, 1980, 1982, 1985, 1987.

РД 118-02-90. Методическое руководство по биотестированию воды. – М.: 1991. 48 с.

РД 52.24.689-2009. Рассмотрение и согласование проектов нормативов допустимого сброса вредных веществ в водные объекты.

РД 52.24.622-2001 Методические указания. Проведение расчетов фоновых концентраций химических веществ в воде водотоков.

РД 52.04.186-89. Руководство по контролю загрязнения атмосферы. – М., 1991.

Роспатент Российской Федерации № 2369867. Способ определения токсичности водных сред / Л.М. Обухова, М.Е. Безруков. – Приоритет изобретения 16.06. 2008 г. // Бюлл. «Изобретения. Полезн. модели». – 2009. № 28. Ч. I. С. 53.

Р 2.1.10.1920-04. Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.

Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях. – М., 1993.

Руководство пользователя. Комплекс «Цито-эксперт». Программа полуавтоматического анализа видеозаписей знакопеременного микроэлектрофореза (NTUSimple V. 2). – Ижевск, 2009. 43 с.

СанПиН 2.1.5.980-00. Гигиенические требования к охране поверхностных вод. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2000.

СанПиН 2.1.6.1032-01. Гигиенические требования к обеспечению качества атмосферного воздуха населенных мест. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2002.

СанПиН 2.1.6.575-96. Гигиенические требования к охране атмосферного воздуха населенных мест.

СанПиН 2.1.7.1287-03. Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы (с изменением в СанПиН 2.1.2.2197-07) // Бюллетень нормативных актов федеральных органов исполнительной власти, № 29, 21.07.2003.

СанПиН 2.2.1./2.1.1.1200-03. Санитарно-защитные зоны и санитарная классификация предприятий, сооружений и иных объектов (в новой редакции с изменениями и дополнениями в СанПиН 2.2.1./2.1.1.2361-08). – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологиии Роспотребнадзора, 2008.

СанПиН 2.2.1./2.1.1.2555-09. Изменение № 2 к СанПиН 2.2.1/2.1.1.1200-03 «Санитарно-защитные зоны и санитарная классификация предприятий, сооружений и иных объектов. Новая редакция» // Бюллетень нормативных актов федеральных органов исполнительной власти, № 46, 16.11.2009.

СанПиН 2.2.1./2.1.1.567-96. Санитарно-защитные зоны и санитарная классификация предприятий, сооружений и иных объектов.

СанПиН № 4630-88. Санитарные правила и нормы охраны поверхностных вод от загрязнений.

СП 2.1.7.1386-03 Определение класса опасности токсичных отходов производства и потребления (с изменениями и дополнениями в СП 2.1.7.2570-10, СП 2.1.7.2850-11) // Сборник нормативно-правовых актов в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Ч. II. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003.

ФЗ РФ «О санитарно-гигиеническом благополучии населения» от 30.03.1999 № 52-ФЗ (ред. от 23.06.2014).

ФЗ РФ «Об отходах производства и потребления» от 24.06.1998 № 89-ФЗ (ред. от 25.11.2013).

ФЗ РФ «Об охране окружающей среды» от 10.01.2002 № 7-ФЗ (ред. от 24.11.2014).

Федеральный классификационный каталог отходов (ФККО) (утв. Приказом Росприроднадзора от 18.07.2014 г., № 445).

ФР 1.39.2001. 00282. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. – М.: Акварос, 2001. 51 с.

ФР 1.39.2001. 00283. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. – М.: Акварос, 2001. 47 с.

ФР 1.39.2001. 00284. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по изменению уровня флуо-

ресценции хлорофилла и численности клеток водорослей. – М.: Акварос, 2001. 43 с.

ФР.1.39.2001.00283. Жмур, Н.С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. – М.: АКВАРОС, 2001. 48 с.

ФР.1.39.2001.00284. Жмур, Н.С., Орлова Т.Л. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей. – М.: АКВАРОС, 2001. 44 с.

ФР.1.39.2007.03221. Биологические методы контроля. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний.

ФР.1.39.2007.03222. Биологические методы контроля. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний.

ФР.1.39.2007.03223. Биологические методы контроля. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуореценции хлорофилла и численности клеток водорослей.

АВТОРЫ

Гелашвили Давид Бежанович

Доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой экологии Института биологии и биомедицины Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского. Лауреат премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники.

Безель Виктор Сергеевич

Доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории экологической токсикологии Института экологии растений и животных Уральского отделения РАН. Заслуженный эколог Российской Федерации.

Романова Елена Борисовна

Доктор биологических наук, профессор кафедры экологии Института биологии и биомедицины Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского. Почетный работник высшего профессионального образования Российской Федерации.

Безруков Михаил Евгеньевич

Кандидат биологических наук, заведующий общеуниверситетской лабораторией теоретической и прикладной экологии Института биологии и биомедицины Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

Силкин Александр Александрович

Кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры экологии Института биологии и биомедицины Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

Нижегородцев Александр Александрович

Кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры экологии Института биологии и биомедицины Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

Давид Бежанович Гелашвили
Виктор Сергеевич Безель
Елена Борисовна Романова
Михаил Евгеньевич Безруков
Александр Александрович Силкин
Александр Александрович Нижегородцев

ПРИНЦИПЫ И МЕТОДЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

Под общей редакцией проф. Д.Б. Гелашвили

Формат 70×108/16. Печать цифровая. Бумага офсетная.
Уч.-изд. л. 62,3. Усл. печ. л. 61,1. Тир. 200. Зак. 300.

Издательство Национального исследовательского
Нижегородского госуниверситета им. Н.И. Лобачевского.
603093, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23.

Отпечатано в типографии
Национального исследовательского
Нижегородского госуниверситета им. Н.И. Лобачевского.
603000, Нижний Новгород, ул. Б. Покровская, 37.