

# БИОТЕСТИРОВАНИЕ КАК МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КЛАССА ОПАСНОСТИ ОТХОДОВ

**В.А. Терехова**

**МГУ им. М.В. Ломоносова, Экспертно-аналитический центр по  
проблемам окружающей среды "ЭКОТЕРРА"**

**В** настоящее время на всей территории России действует система контроля природной среды, основанная на нормативах предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ. Постепенно происходит смена парадигм: все очевиднее становится ограниченность концепции ПДК, некорректность расширения сферы применения санитарно-гигиенических нормативов на природные экосистемы. В то же время все более устойчивые позиции в прикладной экологии, в том числе и при разработке природоохранных нормативных документов, занимает биотический подход [1, 2].

Важным нормативным актом, регламентирующим применение биологических тест-систем для выявления экологической токсичности промышленных отходов, являются "Критерии отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды", утвержденные Приказом Министерства природных ресурсов России от 15 июня 2001 г. № 511. Впервые процедура выявления класса опасности

отходов для окружающей природной среды основывается не только на количественных расчетах по химическому составу содержащихся компонентов, но и на экспериментальной биологической проверке образцов.

Этот факт является отражением современных тенденций в совершенствовании системы природоохранных мероприятий, которые связаны с развитием биотической концепции нормирования вредных воздействий на природные комплексы. Существующая система аналитического контроля загрязнения окружающей среды, несмотря на ее трудоемкость (по опубликованному данным объем контроля составляет 220 млн химических определений в год) и значительные материальные затраты [3], не в состоянии гарантировать экологическую надежность природоохранных мероприятий. Предполагается, что путем оценки токсичности проб биологическими методами можно повысить экологическую результативность проводимой политики.

Экспериментальное определение класса опасности отходов заключается в лабораторном исследовании экологической токсичности анализируемых образцов с использованием биологических объектов.

Согласно принятому документу, экспериментальная оценка токсичности отходов проводится в следующих случаях:

1) если расчетным методом установлен V класс опасности, то необходимо подтвердить отсутствие токсичности на биологических объектах;

2) если невозможно определить качественный и количественный состав отходов и установить класс опасности расчетным методом;

3) по желанию заинтересованной стороны или при необходимости уточнить полученный расчетным методом класс опасности отходов.

Под токсичностью понимают способность веществ вызывать нарушения физиологических функций живых организмов, которые приводят к интоксикациям и гибели сначала отдельных клеток, а потом и всего организма, особей в целом, если существ-

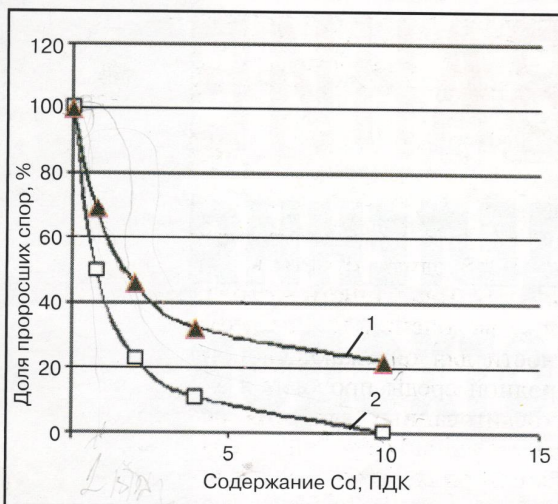


Рис. 1. Зависимость доли проросших спор микроскопических грибов *Stemphylium* sp. (1) и *Fusarium* sp. (2) от содержания в среде иодистого кадмия

во многоклеточное. Биотестирование же представляет собой методический прием лабораторной оценки качества образцов по реакциям подопытных организмов с известными и поддающимися учету характеристиками. Биологический объект в биотестировании фактически используется в качестве аналитического прибора или его

ные или структурные элементы целого организма, элементы клеточной структуры или органы, биохимическую систему и др.

Показателем токсического воздействия служит степень изменения определенных параметров живых систем, которая фиксируется различными методами. Это могут быть биохимические или биофизические методы, различные виды микроскопии, визуальный подсчет. Так, в наших исследованиях с помощью метода газовой хроматографии выявлено нарушение интенсивности дыхания микроорганизмов под влиянием нефтепродуктов [5]. Были показаны изменения динамики прорастания микроскопических грибов под воздействием солей тяжелых металлов при подсчете проросших спор методом световой микроскопии (рис. 1) [6].

Методом люминесцентной микроскопии с применением специфического красителя установлена трансформация морфобиологической структуры биомассы микроскопических грибов под воздействием отходов фосфогипса (рис. 2). На модельном растительном субстрате (листья липы) в условиях натурного эксперимента в подстилке загрязненных почв, формирующихся на отвалах фосфогипса, значительная доля грибной биомассы была представлена спорами, а в подстилке чистых почв преобладала мицелиальная биомасса.

Эти и ряд других методических приемов и биотестовых параметров могут достоверно свидетельствовать о нарушении физиологических функций клеток живых организмов. По экологической и биологической значимости исследуемые показатели не равнозначны.

На практике наиболее распространены методы биотес-

тирования, в которых фиксируются главным образом такие интегральные параметры, как показатели выживаемости, роста и плодовитости организмов. Их надежность экспериментально подтверждена и при анализе токсичности отходов в нашей лаборатории [7]. Все методы биотестирования характеризуются доступностью тест-объекта, которая определяется возможностью их культивирования в лабораторных условиях, простотой поддержания необходимой температуры, освещенности, а также сложностью состава питательных сред, чистотой воздуха и пр.

Наиболее быстрые реакции на токсическое воздействие равных концентраций удается регистрировать у простых организмов: бактерий, водорослей и инфузорий. Наступление таких реакций ограничивается минутами или несколькими часами. Сутками измеряется проявление ответных реакций более крупных объектов (например, у ракообразных — дафний), а так называемая хроническая токсичность оценивается в течение многих суток и даже недель.

Каждый метод характеризуется определенными техническими способами реализации. С точки зрения технического оснащения наиболее доступными являются методы, основанные на регистрации общеприродных характеристик (подсчет численности или прироста популяций). Для проведения физиолого-биохимических оценок и определения соотношения, например, живых и мертвых клеток или флуоресценции тест-культур организмов, необходима специальная аппаратура, устройства.

Одинаково важной для всех методик является оценка надежности тест-объектов. Поскольку по разным причи-

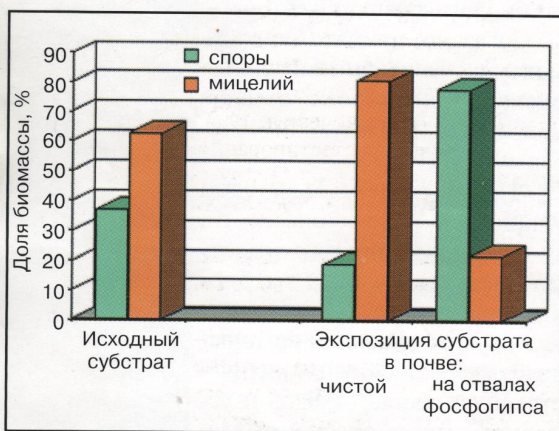


Рис. 2. Изменения морфобиологической структуры биомассы микроскопических грибов в почве под воздействием отходов фосфогипса

части и является более дешевым.

В исследовательских целях, согласно данным Агентства окружающей среды США (EPA), биотестирование осуществляется с использованием более 100 тест-объектов и около 5000 тест-реакций. Теоретически можно использовать биологические системы любого уровня сложности: сообщества и популяции организмов, отдельные выборки, функциональ-

нам со временем они могут изменять свою чувствительность, обязательным является контроль с помощью модельного токсиканта (например, бихромата калия). Пригодными для анализа признаются тест-объекты лишь в том случае, если концентрация модельного токсиканта, вызывающая 50 %-ный эффект за определенное время, не выходит за пределы фиксированного диапазона [4]. Контроль таких параметров должен проводиться регулярно, не реже 1 раза в три месяца.

Биотестирование промышленных отходов предполагает анализ водной вытяжки на острую токсичность, т.е. относительно кратковременный эксперимент (от нескольких минут до 4 сут.).

Перечень наиболее широко распространенных в России биотестов, применяемых в природоохранных целях, включает методы с использованием ряда эвритопных видов: зеленых водорослей (*Scenedesmus quadricauda* Turp. Breb., *Chlorella vulgaris* Beijer.), ракообразных (*Daphnia magna* Straus., *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg), простейших (*Paramecium caudatum* Erenberg) и др.

На том основании, что наибольшую опасность для объектов окружающей среды представляет водно-миграционный путь распространения токсичных компонентов отходов, в качестве тест-объектов выбирают в основном гидробионты. Вместе с тем загрязнение разных типов почв отходами сопровождается, с одной стороны, процессами связывания токсикантов, в частности, гуминовыми комплексами, аккумуляцией, с другой стороны, биологическим переносом и транслокацией. Поэтому для анализа почвенных образцов, загрязненных отходами, целесообразно применять

| Класс опасности отхода | Кратность разведения водной вытяжки из опасного отхода, при которой вредное воздействие отсутствует |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| I                      | >10000                                                                                              |
| II                     | 10000 - 1001                                                                                        |
| III                    | 1000 - 101                                                                                          |
| IV                     | < 100                                                                                               |
| V                      | 0                                                                                                   |

более широкий набор тест-объектов, которые включают и почвообитающие организмы (педобионты).

Одним из перспективных методов, фиксирующих перестройку функционального состояния микробного сообщества почв в условиях загрязнения по изменению спектра поглощаемых субстратов, является метод мультисубстратного тестирования (МСТ). Он применяется экологами и биологами почв. Для более широкого использования в практических целях и для включения в Государственный реестр методик экологического контроля планируется проведение его метрологической аттестации. Также рассматриваются возможности организации серийного производства оборудования.

Согласно "Критериям отнесения опасных отходов к определенному классу опасности", обязательным является анализ образцов не менее чем с двумя тест-объектами из разных биологических таксонов или групп (ракообразные и простейшие, водоросли и бактерии и т.п.). Если у разных тест-объектов неодинаковая реакция, то в окончательном результате следует учитывать ответ наиболее чувствительного тест-объекта.

Класс опасности устанавливается по водной вытяжке, разведенной до такой степени, когда не проявляется вредное воздействие на биологические объекты, отнесение отходов к V классу опасности основано на действии водной вытяжки отхода без ее разведения (см. таблицу).

Необходимо отметить, что анализ токсичности отходов при выяснении класса опасности для окружающей природной среды проводят в аккредитованных для этих целей специализированных лабораториях, число которых невелико, поэтому возникают трудности при составлении паспорта отходов.

#### Литература

1. Воробейчик Е. Л., Садыков О.Ф., Фарафонов М. Г. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем (локальный уровень). Екатеринбург: УИФ "Наука", 1994.
2. Левич А.П. Биотическая концепция контроля природной среды // ДАН, 1994. Т. 337. № 2.
3. Жмур Н.С. Государственный и производственный контроль токсичности методами биотестирования в России. М.: Международный дом сотрудничества, 1997.
4. Методы биотестирования качества водной среды / Под ред. О. Ф. Филенко. М.: Изд-во МГУ, 1989.
5. Терехова В.А., Семенова Т.А., Головченко А.В., Трофимов С.Я. Влияние нефтяного загрязнения на деструкционную активность и состояние микробиоты олиготрофных торфяников Западной Сибири // Экобиотехнология: борьба с нефтяным загрязнением окружающей среды. Тез. док. конф. Пушино: ИБФМ, 2001.
6. Терехова В.А., Швед Л.Г. Изменчивость морфобиохимических признаков водных грибов под воздействием тяжелых металлов // Экология. 1994. Т. 6.
7. Yakovlev A.S., Tumencev I.V., Yakovlev S. A., Rachleeva A.A., Terekhova V.A. Estimate of Ecological Soil Toxicity Using Biotestmethods (on the solid Waste Ranges in Moscow Region) The 2nd Int. Congress Waste- Tech -2001, Moscow, 5-6 June, 2001. ■