

ПОКАЗАТЕЛИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДИСПРЕСНЫХ ГРУНТОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ ИНЖЕНЕРНО-ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИЗЫСКАНИЯХ

ГРИГОРЬЕВА И.Ю.

Доцент кафедры инженерной и экологической геологии геологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, к.г.-м.н., г. Москва, ikagrig@inbox.ru 8(495)939-22-04

ГЛАДЧЕНКО М.А.

Старший научный сотрудник кафедры химической энзимологии химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, к.т.н., г. Москва, gladmarina@yandex.ru

ПРИПАЧКИНА Д.П.

Магистрант кафедры инженерной и экологической геологии геологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва, dasha.pripachkina@yandex.ru

Ключевые слова: *грунты-отходы, инженерно-экологические изыскания, класс опасности грунта, биотические свойства грунта, ферментативная активность грунта*

Аннотация. В результате строительных работ образуются миллионы кубометров грунтов-отходов. Возможность их дальнейшего использования в строительстве определяется результатами инженерно-экологических изысканий. При этом установление класса опасности грунтов проводится на основе химико-аналитических анализов проб и экспериментальных исследований по биотестированию. Каждый из подходов имеет свои ограничения, что зачастую не позволяет адекватно оценить класс опасности грунтов-отходов. Для этих целей авторами статьи предлагается применять в качестве интегральных характеристик состава и состояния грунтов показатели их биотических свойств, и в частности, величины ферментативной активности. Представленные в статье результаты дополнительных исследований по определению ферментативной активности грунтов, проведенные в комплексе инженерно-экологических изысканий по одному из сложных в экологическом отношении объектов, показали, что этот показатель находится в полном соответствии с принятыми на сегодняшний день подходами к установлению класса опасности грунтов. При этом ферментативная активность является наиболее простой в измерении и комплексной характеристикой высокочувствительной к загрязнению грунта, позволяющей выявить биологически значимые виды и уровни загрязнений.

INDICATORS OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF DISPERSIVE SOIL AND THEIR APPLICATIONS IN ENGINEERING-ECOLOGICAL INVESTIGATIONS

GRIGORIEVA I.Yu.

Associate professor of the Engineering and Ecological Geology Department of the Geology Faculty of Lomonosov Moscow State University, PhD (Candidate of Science in Geology and Mineralogy, Moscow, ikagrig@inbox.ru

GLADCHENKO M.A.

Senior researcher of Chemical Enzymology Department, Chemical Faculty of Lomonosov Moscow State University, PhD (Candidate of Technical Sciences), Moscow, gladmarina@yandex.ru

PRIPACHKINA D.P.

Keywords: soil-waste, engineering ecological survey, hazard class of the soil, biotic properties of soil, enzymatic activity of soil

Abstract. Due to construction activities millions of cubic meters of soil-waste are generated. The possibility of their further use in construction is determined by the results of engineering-ecological surveys. Hazard class soils classification is based on a chemical analysis of samples and analyzes of experimental studies biotesting. Each approach has its limitations, which often does not adequately assess the hazard class of soil-waste. For this purpose, the authors of this article proposed to use the indicators of their biotic properties, and in particular, the values of enzyme activity as the integral characteristics of soils composition and state. Presented in the article the results of additional studies on soil enzymatic activity determination, carried out in a complex engineering-ecological surveys at one of the complex environmentally objects, we have shown that this figure is in line with the approaches to the establishment of the hazard with the soil taken to date. This enzymatic activity is the most simple and complex characteristic highly sensitive to pollution of soil, allowing to identify biologically significant types and levels of contaminants.

Введение

Актуальность рассматриваемых в статье вопросов поиска критериев оценки класса опасности грунтов-отходов продиктована, прежде всего, реформой, начатой принятием в декабре 2014 года Федерального закона № 89 «Об отходах производства и потребления» [14], где сформулированы приоритетные направления в государственной политике по обращению с отходами. Среди этих направлений называются: максимальное использование исходных сырья и материалов; предотвращение образования отходов; сокращение образования отходов и снижение класса опасности отходов в источниках их образования; обработка отходов; утилизация отходов; обезвреживание отходов (сжигание). При этом в вопросах обращения с отходами основополагающим должен стать принцип наилучших доступных технологий.

В связи с этим, обратимся к рассмотрению ситуации, сложившейся в отношении обращения с отходами, представляющих собой грунтовые системы. При инженерно-экологических изысканиях перед изыскателями встаёт вопрос оценки качества грунтов на предполагаемых площадках строительства. Грунты должны быть убраны со строительных площадок по окончании строительства и подвергнуты (по возможности) вторичному использованию (утилизации), либо захоронены на полигонах [9]. Проблему размещения грунтов необходимо решить ещё на стадии проектирования при выполнении инженерно-экологических изысканий. В условиях усиливающегося антропогенного влияния на все компоненты природных систем, увеличения площади застройки, всё большего вовлечения ранее непригодных для строительства территорий грунты всё чаще попадают в категорию отходов, а их объёмы достигают сотни тысяч и миллионы кубометров. При тех объёмах, которые свойственны современному строительству и качеству грунтов, суммы платежей за негативное воздействие грунтов-отходов на окружающую среду могут исчисляться десятками и сотнями миллионов рублей. За редким исключением грунты относятся к V (практически неопасные) или IV (малоопасные) классам опасности отходов. Для примера [9], базовые нормативы платы за негативное воздействие составляют для отходов IV класса опасности — 248,4 руб./т, для отходов V класса — 15 руб./т. Эти нормативы затем умножаются на коэффициенты, учитывающие инфляционные изменения и природные особенности территории. Обращает на себя внимание тот факт, что различие в сумме платежей будет весьма существенное — более чем в 16 раз. Это обстоятельство заставляет самым серьёзным образом подойти к точному и обоснованному определению класса опасности грунтов.

Критерием, определяющим применимость грунта-отхода в строительстве, является степень его загрязнения и опасности по отношению к живым организмам. Класс опасности отходов может быть установлен расчетным путем на основании результатов химико-аналитических исследований проб грунтов, отобранных в ходе инженерно-экологических изысканий. Однако для подтверждения принадлежности грунтов как отходов к V классу опасности обязательным является использование также и экспериментального метода.

Экспериментальный метод основан на биотестировании водной вытяжки отходов. При определении класса опасности отхода применяется не менее двух тест-объектов из разных систематических групп. Такие исследования предполагают значительные временные затраты (не менее 96 часов). Экспериментальный метод (исследование отходов по токсикологическим показателям) осуществляется в специализированных аккредитованных для этих целей лабораториях. При отсутствии экспериментального подтверждения V класса опасности, контролирующие государственные органы автоматически относят отходы к IV классу опасности, что, как уже было отмечено выше, многократно увеличивает размер экологических платежей. В связи с этим на экологов-изыскателей ложится дополнительная нагрузка по экспериментальному подтверждению V класса, которая, к сожалению, никак не учитывается в справочниках базовых цен на изыскания и не принимается во внимание заказчиками работ. Стоимость определения класса опасности отхода методом биотестирования составляет порядка 12 тысяч за одну пробу. В сложившейся ситуации нами была предпринята попытка рассмотрения вопросов оценки класса опасности грунтов как отходов с позиций анализа их свойств, и в частности, биотических.

Теоретические сведения о ферментативной активности грунтов, как показателе их биологической активности

Как известно, биотическая составляющая является одной из компонент грунтов [5]. Она включает совокупность всех микро- и макроорганизмов грунта. Наличие живых организмов обуславливает протекание многих процессов в геологической среде, и в совокупности играет ключевую роль в малом биохимическом круговороте веществ на Земле. Свойства грунта, определяемые присутствием и жизнедеятельностью в нём живых организмов, называются биотическими [5]. При этом необходимо отметить, что применение прямых оценок биотических характеристик грунта (к примеру, общая численность микроорганизмов) не является целесообразным (и соответственно рентабельным) при проведении инженерно-экологических изысканий. Это связано с тем, что динамика численности и видового соотношения микроорганизмов крайне высока. Известно [1], что все виды микроорганизмов есть в любом грунте, но преобладающим будет являться тот вид, который более приспособлен к сложившимся в данный момент условиям геологической среды. И как справедливо в своё время было отмечено в работе [6], что за всю историю исследования ещё никому не удавалось выделить из какого-нибудь образца грунта всё живое население и идентифицировать его. В связи с этим наиболее объективными методами оценки биотических свойств грунта являются косвенные методы, основанные на выявлении характеристик, отражающих интенсивность тех или иных процессов жизнедеятельности организмов в грунте. К характеристикам данного типа относятся «дыхание» и ферментативная активность. «Дыхание» грунтов определяется интенсивностью выделения CO_2 . Однако на этот процесс накладываются биохимические реакции, связанные с поглощением CO_2 (что свойственно для хемосинтезирующих организмов) [7]. Таким образом, наиболее перспективным биотическим показателем грунта при проведении инженерно-экологических изысканий, на наш взгляд, представляется ферментативная активность.

Ферменты – это биологические катализаторы белковой природы, ускоряющие процесс метаболизма в клетке [1, 6, 12]. Ферменты поступают в грунт с прижизненными выделениями растений и животных, а также после их отмирания. Они значительное время сохраняют свою активность, благодаря фиксации (иммобилизации) илистой и пылеватой

фракциями грунтов, а также их органическим веществом. Молекулярная активность фермента - число молекул данного субстрата или эквивалентов затронутых групп, превращаемых за одну минуту одной молекулой фермента. А так как в грунтовом агрегате количество ферментов достигает миллиарды, ферментативную активность можно рассматривать, как функцию самого грунта.

Таким образом, ферментативная активность грунтов - это совокупность процессов, катализируемых внеклеточными (иммобилизованными на частицах грунта и стабилизированными в грунтовом растворе) и внутриклеточными ферментами грунтовой биоты. Способность грунтов (прежде всего, почв) оказывать ферментативное воздействие на некоторые субстраты установлена давно. Еще в 1844 году Либих в «Химических письмах» [7] упоминал о каталитическом действии почв. Различные грунты с неодинаковой силой проявляют эту способность. Определяемая экспериментально ферментативная активность грунтов может рассматриваться в качестве объективного показателя их суммарной биологической активности. Именно ферменты являются постоянно действующим фактором, определяющим направленность и интенсивность процессов распада и окисления органических веществ, поступающих в грунт. В грунте накапливается определенный запас ферментов, качественный и количественный состав которого характерен для данного типа грунта.

По типу катализируемых реакций все известные ферменты разделены на шесть классов. На сегодняшний день описано свыше 3000 различных ферментов (ещё в 1964 году в литературе было описано только 800), но в природе по некоторым оценкам [1] их существует около 25000. Наиболее хорошо изучены ферменты классов оксидоредуктаз и гидролаз, для них в основном и разработаны методы определения.

Оценка ферментативной активности грунтов относится к методам определения потенциальной биологической активности, то есть той активности, которая обнаруживается в лаборатории при оптимальных условиях для протекания данного процесса. Определение характеристик ферментативной активности сводится к установлению каталитического действия грунтовой пробы на процессы превращения соответствующих органических и минеральных соединений (субстратов), вносимых в грунт.

Данный показатель широко применяется в почвоведении, биологии, химии, но при инженерно-экологических исследованиях он, к сожалению, не нашёл широкого применения. На сегодняшний день согласно СП 2.1.7.1386-03 «Определение класса опасности токсичных отходов производства и потребления» [11] эколого-гигиенические показатели и критерии отнесения отходов к классам опасности включают изучение фитотоксичности (ER50) и токсичности водных вытяжек для гидробионтов. Однако данные экспериментальные исследования требуют гораздо больших затрат времени и имеют более высокую величину случайной ошибки измерений по сравнению с определением ферментативной активности. Помимо этого, ферментативная активность проста в определении, не требует дорогостоящего оборудования, может быть использована для разных типов грунтов и загрязнений.

Определение ферментативной активности грунтов с территории птицефабрики «Мирная»

Одна из попыток применения ферментативной активности в комплексе инженерно-экологических изысканий была предпринята нами в ходе исследований состояния территории нефункционирующей птицефабрики «Мирная» Люберецкого района Московской области (рис. 1). Особенностью территории является наличие прудов-отстойников птицефабрики «Мирная», в которых в период ее работы накапливался куриный помет. На период изысканий здесь происходило разложение накопленных иловых осадков, находящихся в сухом, вязком и водонасыщенном состоянии. Общая площадь прудов-отстойников составляла около 5,2 га.

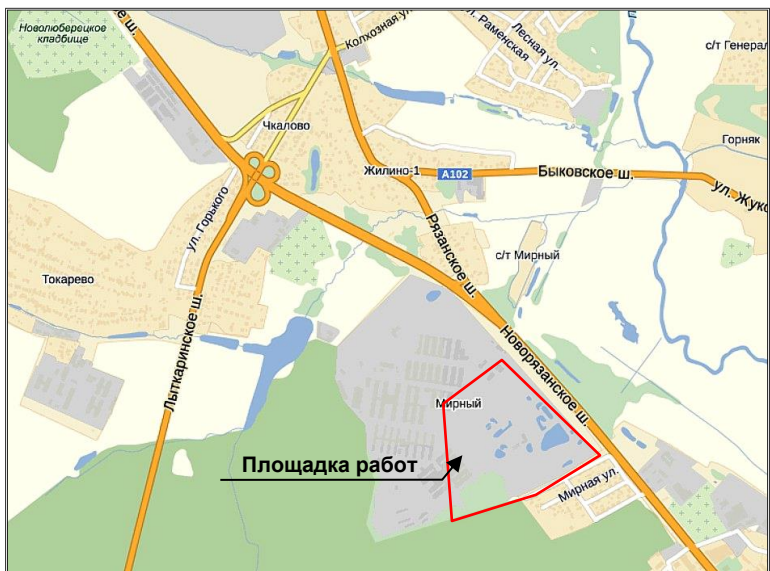


Рис. 1. Схема местоположения площадки работ

С учетом природных и техногенных условий территория была поделена на пробные площадки (рис. 2). С каждой пробной площадки отобраны образцы для радиологических, химических, микробиологических, паразитологических и энтомологических исследований. Пробы почв и илового осадка отбирались с глубины 0,0-0,2 м. Опробование грунтов площадки на глубину свыше 0,2 м проводилось из скважин. Пробы отбирались с каждого метра до глубины 2,0-4,0 м.



а)



б)



в)

Рис. 2. Пруды-отстойники на исследуемых площадках (фото И.В.Мастюковой). Площадки номер: а – 4; б – 16; в – 23

В геологическом строении рассматриваемой территории до глубины 10 м сверху вниз выделяются: современные техногенные отложения (tIV); верхнечетвертичные аллювиальные отложения второй надпойменной террасы р. Москвы (a₂III).

Современные техногенные отложения приурочены к участкам хозяйственного использования территории. Они представлены насыпными грунтами и иловым осадком прудов-отстойников. Насыпные грунты представлены песками разной крупности, неоднородными, рыхлыми, мощностью на площадке до 1 м, в обваловке прудов-отстойников до 3 м. Иловый осадок образовался в результате накопления и разложения куриного помета в прудах-отстойниках (см. рис. 2). Иловый осадок встречается на площадке изысканий в трех состояниях: иловый осадок черный, насыщенный водой, с характерным запахом разлагающейся органики; иловый осадок черный, вязкий, влажный, с характерным запахом разлагающейся органики; иловый осадок высохший, черный, сыпучий, маловлажный.

В соответствии с суммарным показателем загрязнения (Z_c) исследуемые грунты были отнесены к категории загрязнения «чистая», «умеренно опасная», «опасная» и «чрезвычайно опасная». Грунты отстойников, принадлежащих к категории загрязнения «опасная» и «умеренно опасная», не были рекомендованы к вывозу с территории бывшей птицефабрики. Однако грунты этих категорий загрязнения полностью не удовлетворяют требованиям СанПиН [10].

К таким грунтам относятся отложения шести отстойников (табл. 1). Помимо этого, детальное изучение данных Лаборатории химико-аналитических исследований ФГБУН Геологического института РАН по химическому составу выявило содержание As и Zn значительно превышающее ПДК во всех грунтах, относящихся к категории загрязнения «опасная» и «умеренно опасная» (табл. 2). Проведенный нами ретроспективный анализ показал, что вероятными источниками токсичных металлов в исследуемых грунтах являются фосфид Zn и соединения As, которые были внесены в грунт с ядами, используемыми в начале 2000-х годов на птицефабрике против увеличившегося количества грызунов [13]. Данные по загрязнению тяжелыми металлами (ТМ) определили необходимость дальнейших исследований влияния грунтов данной территории на биоту. Таким образом, в последующем грунты категорий загрязнения «опасная» и «умеренно опасная» были нами разносторонне исследованы на предмет токсичности по отношению к живым организмам, в том числе и с применением показателей биотических свойств грунтов.

Таблица 1

Показатели загрязнения грунта

(на основе данных ИЛЦ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Московской области» и Лаборатории химико-аналитических исследований ФГБУН

Геологического института РАН)

Номер площадки отбора	Глубина отбора, м	Тип грунта	Категория загрязнения*							Класс опасности
			тяжелые металлы (Zn, Cu)	СПЗ, Zс	нефтепродукты	бенз(а) пирен	нитратный азот	эпидемические показатели	итоговый показатель	
4	0,0-0,2	почвенно-растительный слой	Д	Д	Д	Д	Д	УО	УО	V
10		0,0-0,2	Д	Д	Д	Д	Д	О	О	V
	Скв.6	0,2-1,0	Д	Д	Д	Д	О	-	О	V
		1,0-2,0	Д	Д	Д	Д	О	-	О	V
		2,0-3,0	Д	Д	Д	Д	Д	-	Д	V
11		0,0-0,2	Д	Д	Д	Д	Д	УО	УО	V
	Скв.3	0,2-1,0	Д	Д	Д	Д	Д	-	Д	V
		1,0-2,0	Д	Д	Д	Д	Д	-	Д	V
		2,0-3,0	Д	Д	Д	Д	Д	-	Д	V
16		0,0-0,2	Д	Д	Д	Д	Д	О	О	V
	Скв.5	0,2-1,0	Д	Д	Д	Д	Д	-	Д	V
		1,0-2,0	Д	Д	Д	Д	Д	-	Д	V
		2,0-3,0	Д	Д	Д	Д	Д	-	Д	V
		3,0-4,0	Д	Д	Д	Д	Д	-	Д	V
22		0,0-0,2	Д	Д	Д	Д	Д	УО	УО	V
	Скв.4	0,2-1,0	Д	Д	Д	Д	Д	-	Д	V
		1,0-2,0	Д	Д	Д	Д	Д	-	Д	V
		2,0-3,0	Д	Д	Д	Д	Д	-	Д	V
		3,0-4,0	Д	Д	Д	Д	Д	-	Д	V
23	0,0-0,2	илловый осадок сыпучий	Д	Д	Д	Д	Д	УО	УО	

*Категории загрязнения грунта: Д-допустимая, УО-умеренно опасная, О-опасная

Таблица 2

Химический состав грунта

(по данным Лабораторией химико-аналитических исследований ФГБУН Геологический институт РАН)

Расчет выполнен в соответствии с приказом МПР РФ от 15.06.2001 г. №511 "Об утверждении отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды (Сорока А.С., Асланян А.С. Отчёт об инженерно-экологических изысканиях для проектирования жилой застройки по адресу: Московская область, Люберецкий район, п. Томилино. Москва 2013)

Номер площа дки отбора	Глуби на отбора	Тип грунта	рН	Концентрация, мг/кг																Степень опасности
				нефтепродукты	бенз(а)пирен	свинец, Pb	медь, Cu	цинк, Zn	кадмий, Cd	никель, Ni	мышьяк, As	ртуть, Hg	хром, Cr	марганец, Mn	кобальт, Co	аммонийный азот, NH ₄ ⁺	нитратный азот, NO ₃ ⁻	суперфосфат (по P ₂ O ₅)	хлорид калия (по K ₂ O)	
4	0,0-0,2	почвенно-растительный слой	6,7	95	<0,005	8,4	15	80	0,18	14	3,3	0,02	27	425	3	9,7	14	0,97	1,70	2
10	0,0-0,2	насыпной грунт	7	30	<0,005	2,8	14	76	0,12	13	3,0	<0,0 2	19	204	< 2	12	25	1,40	1,38	1
11	0,0-0,2	почвенно-растительный слой	6,9	55	<0,005	7,1	26	110	0,68	12	2,7	0,02	41	231	4	8,5	11	1,96	1,63	2
16	0,0-0,2	почвенно-растительный слой	7,3	76	<0,005	7,3	24	140	0,18	13	2,4	0,03	48	269	3	11	10	2,12	1,74	2
22	0,0-0,2	почвенно-растительный слой	7,1	76	<0,005	3,8	35	219	0,27	13	3,3	<0,0 2	26	433	3	12	13	3,64	1,56	2
23	0,0-0,2	иловый осадок сыпучий	6,9	58	<0,005	9,2	5	65	0,12	12	3,1	<0,0 2	33	296	2	9,2	13	0,16	1,75	1
ПДК (ОДК) для песчаных почв						32,0	33,0	55,0	0,5	20,0	2,0	2,1		1500,0	-		130,0	200,0	360,0	
ПДК (ОДК) для глинистых почв				300,0	0,02										-					

Биотестирование загрязнённых грунтов

Исследуемым грунтом был почвенно-растительный слой и иловый осадок, отобранные на глубине 0,0-0,2 м и 0,2-0,4 м. В результате проведённых экспериментальных исследований были изучены биотические и химические свойства этих грунтов, а также их состав. В дальнейшем было проведено сопоставление полученных результатов (табл. 3). По гранулометрическому составу все рассматриваемые грунты представляют собой песок средний. Исследования химического состава выявили превышение ПДК по фосфатам во всех исследованных образцах (см. табл. 3). Однако, в виду того, что территория птицефабрики не будет использоваться под сельскохозяйственные угодья, данные по фосфатам не рассматривались, как основной тип загрязнений.

В результате проведённых нами микробиологических исследований на питательных средах «Кровяной агар», *Pseudomons*– агар, «Мясопептонный агар» (МПА), «Чапек-агар», «Эшби», а также «Сусло агар» были выращены колонии микроорганизмов (рис. 3). При этом экспериментальные исследования выявили благоприятное развитие микроорганизмов, включая самое высокое – восьмикратное разведение, что свидетельствует о высокой микробиологической активности исследованных грунтов (рис. 4).

Таблица 3

Состав и свойства исследуемых грунтов

Номер пробы	Номер площад ки отбора	Тип грунта	Глубина отбора, м	pH	Влажность, %	Общее содержание органического вещества, %	NH ₄ мг /кг грунта	PO ₄ мг /кг грунта	Химическое потребление кислорода (ХПК) мг /кг грунта
1	4	Почвенно-растительный слой с песком и гравием	0,0-0,2	7,01	13	-	44,85	841	1880
2	10	Насыпной грунт	0,0-0,2	7,01	9	-	50,08	346	1483
3	11	Почвенно-растительный слой	0,0-0,2	7,05	17	-	104,22	4579	3355
4			0,3-0,4	7,01	7	-	45,83	523	2206
5	16	Почвенно-растительный слой	0,0-0,2	6,75	14	2	52,89	1089	1894
6			0,3-0,4	6,30	5	1	43,19	807	1023
7	22	Почвенно-растительный слой	0,0-0,2	6,93	21	-	48,40	3100	1593
8			0,3-0,4	6,83	9	-	42,47	799	1623
9	23	Почвенно-растительный слой	0,0-0,2	7,08	20	2	44,76	3617	1022
10			0,3-0,4	7,13	3	1	36,08	576	783

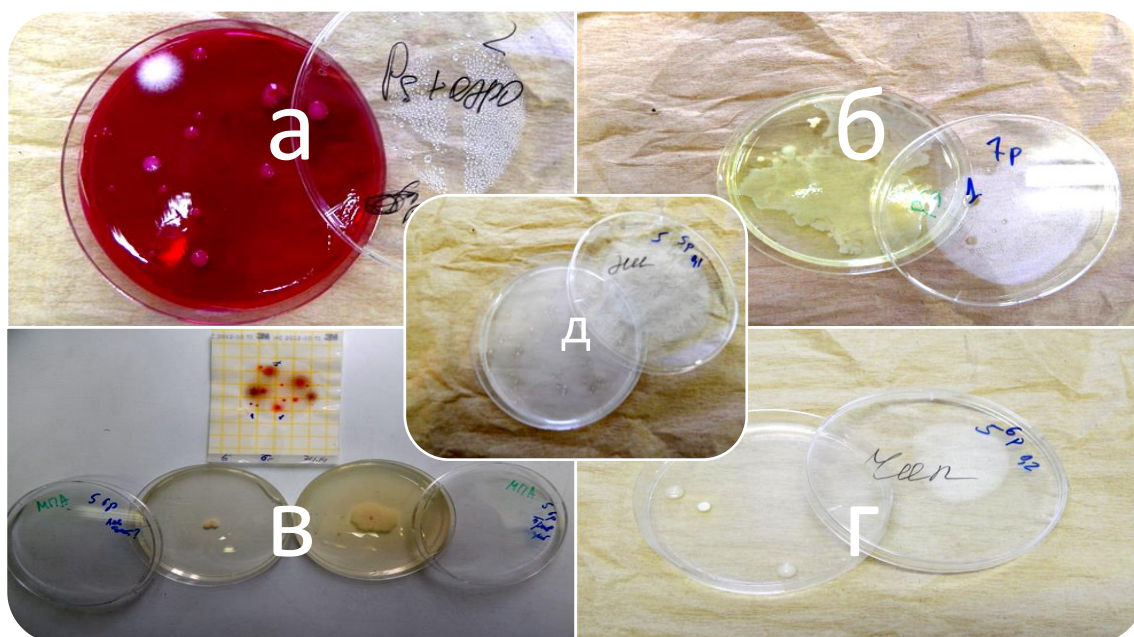
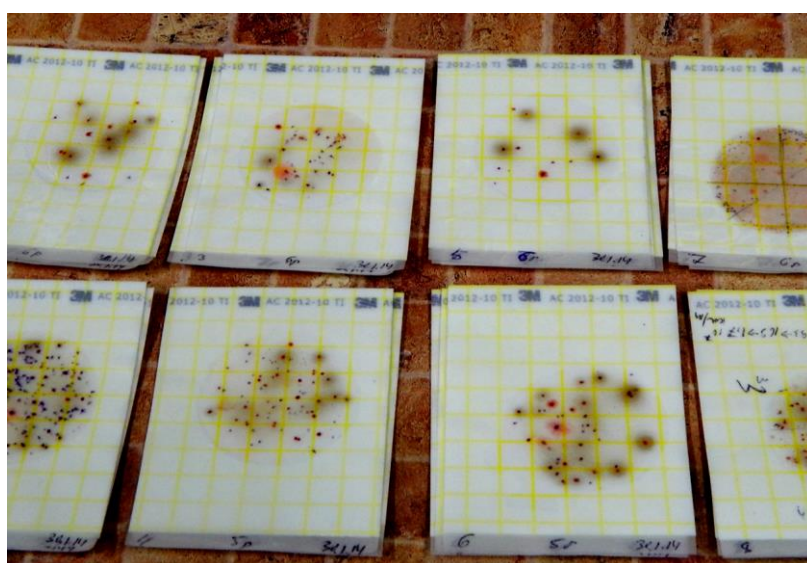


Рис. 3. Типичные колонии микроорганизмов, выделенные в процессе исследований на различных питательных средах: а - Кровяной агар; б - *Pseudomonas*-агар; в - Мясопептонный агар; г - Чалек-агар; д - Эшби



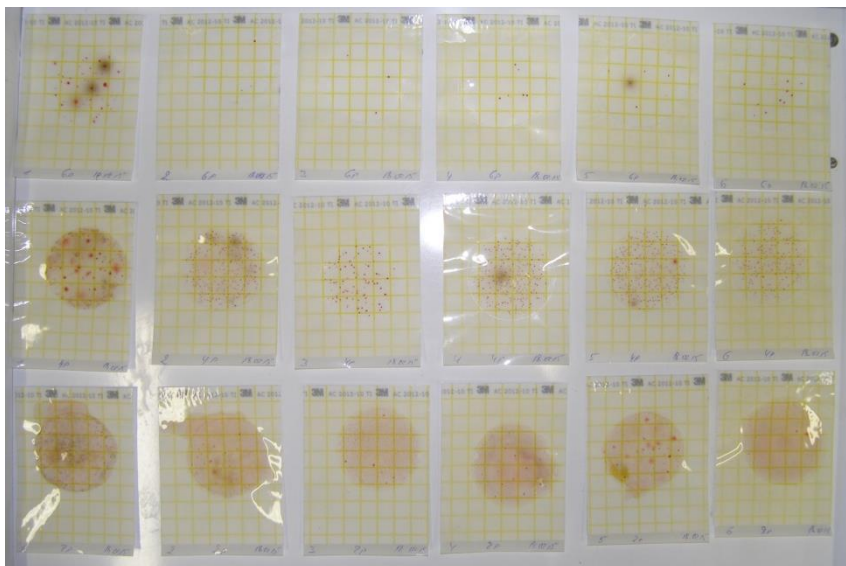


Рис. 4. Петрифилмз с колониями микроорганизмов из вытяжек исследуемого грунта

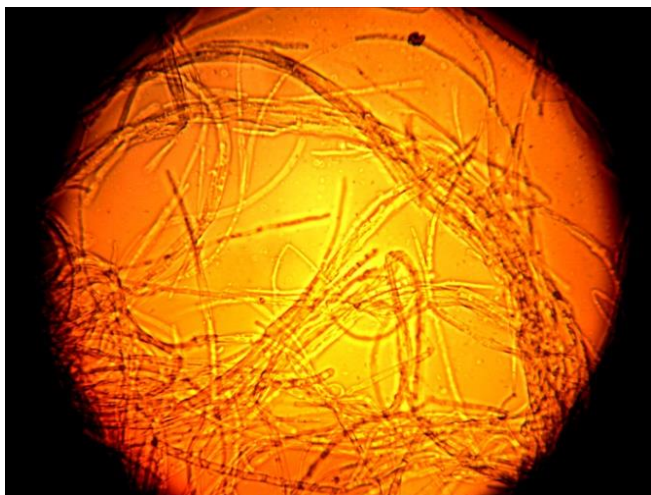
Рост колоний на всех исследованных питательных средах (см. рис. 3) свидетельствует о наличии в изучаемых грунтах различных типов микроорганизмов (табл. 4): «Эшби» - олигонитрофилы (возможно азотобактер), способные использовать азот воздуха; на среде «Чапек-агар» - актиномицеты - микроорганизмы, способные использовать белок. Однако ни одного гемолитического вида при этом обнаружено не было. Псевдомонады были обнаружены на селективной среде для представителей *Pseudomonas*. На среде «Кровяной агар» наблюдалось развитие колоний розово-красной пигментации свойственных бактериям родов *Rhodococcus*, *Micrococcus*.

Таблица 4

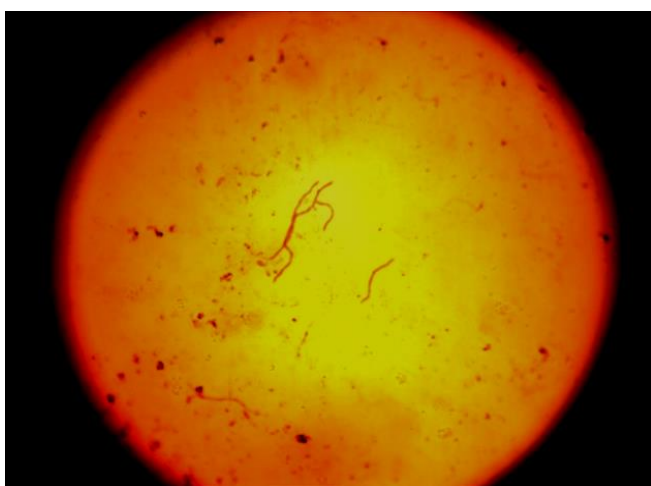
Типичные колонии микроорганизмов, выделенные в исследуемых грунтах

Питательная среда	Структурные характеристики типичных колоний
«Кровяной агар»	Выпуклые, однородные, с плоским основанием до 1,5 см, блестящие, розовой окраски, край ровный, структура однородная, консистенция упругая
«Pseudomons– агар»	Плоская, лимонной окраски, неправильной формы, до 10 см. Выпуклые, блестящие, округлые, желтовато–белой окраски, край ровный, структура однородная, консистенция упругая, образуют прозрачные ореолы. (Встречалась плоская колония с лучистым распространением)
«Мясопептонный агар»	Колонии с плоским или кратерообразным профилем, фестончатым краем, размером до 1,7 мм, гладкой, либо бороздчатой поверхностью, блестящие, желтовато – белой окраски, структура однородная (1 из представителей рыхлой консистенции), вязкой консистенции
«Чапек-агар»	Очень выпуклые, блестящие, серо–жёлтой окраски, край ровный, структура однородная, консистенция упругая, изолированные друг от друга, до 1 см. Колонии с плотным выпуклым основанием, оранжевой окраски, край ровный, структура однородная, консистенция упругая, с плоским ореолом, размером до 0,5 см, как одиночные, так и сросшиеся колонии
«Эшби»	Выпуклые, блестящие, край ровный, структура однородная, консистенция упругая, с прозрачным гало вокруг колонии (что свидетельствует о выделении кислот в питательную среду)

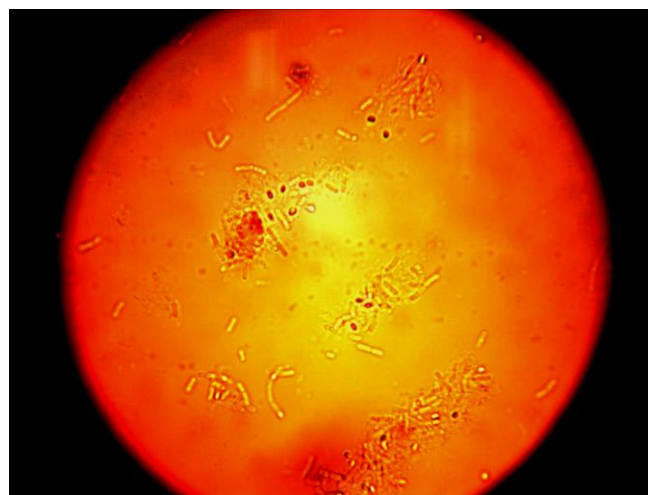
Методом посева из грунтовых суспензий на соответствующих питательных средах была выявлена распространённость во всех исследованных образцах коричневых колоний аммонифицирующих бактерий (рис. 5). Отсутствие колоний на питательной среде «Сусло агар» свидетельствует о малом количестве «почвенных грибов». Таким образом, проведенные исследования показали наличие разнообразных видов микробиологического сообщества, что свидетельствовало о благоприятном состоянии грунта, как среды обитания микроорганизмов.



а)



б)



в)

Рис. 5. Микроскопический вид клеток бактерий из вытяжки грунта отстойника № 16 (при увеличении 1000 крат): а) актиномицетов с прямыми спораносцами, образующими белый воздушный мицелий, выделенными на питательной среде «Кровяной агар»; б) актиномицет со спиральным спораносцем на питательной среде «Мясопептонный агар»; в) рода *Pseudomonas* на селективной питательной среде «*Pseudomonas* – агар»

Также на исследованных грунтах была определена фитотоксичность (на примере культуры кресс-салата *Lepidium sativum*) (рис. 6) и биотоксичность (на примере рачков *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg). Результаты исследований показали, что сухая масса растений на исследуемых грунтах была несколько ниже, чем на незагрязнённом (контрольном) грунте, однако эта разница не превышает 30%. При этом примечательно, что всхожесть семян на загрязненном тяжёлыми металлами грунте оказалась выше, чем на контроле. Продуктивность и морфологические признаки кресс-салата *Lepidium sativum* оказались выше, либо соизмеримыми с контрольным образцом. Таким образом, в соответствии с ГОСТ Р ИСО [3] исследуемый грунт не является фитотоксичным для культуры кресс-салата (табл. 5).



Рис. 6. Эксперимент по выявлению фитотоксичности грунтов с использованием культуры кресс-салата (*Lepidium sativum*)

Таблица 5

Оценка фитотоксичности исследуемых грунтов с использованием культуры кресс-салата (*Lepidium sativum*)

Номер пробы	Номер площадки отбора	Глубина отбора, м	Число посаженных семян	Число всходов семян по истечении 14 сут.	Общая длина растений, мм	Общая влажная биомасса растений, г	Общая сухая биомасса растений, г
1	4	0,0-0,2	30	30	246,7	0,8786	0,0890
2	10	0,0-0,2	30	30	169,3	1,6856	0,1794
3	11	0,0-0,2	30	30	189,3	1,1624	0,0809
4		0,3-0,4	30	30	119	0,5613	0,0776
5	16	0,0-0,2	30	29	109,9	0,5512	0,0702
6		0,3-0,4	30	30	116,6	0,7134	0,0811
7	22	0,0-0,2	30	30	216,2	1,4832	0,1137

8		0,3-0,4	30	30	120,3	0,6641	0,0641
9	23	0,0-0,2	30	21	126,6	0,8430	0,0940
10		0,3-0,4	30	30	103,4	0,6825	0,0753
11	Контроль	-	30	20	83,1	1,0787	0,1463

Рачки *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg в вытяжках исследованных грунтов показали практически 100 % развитие в пяти параллельных опытах (рис. 7 и 8).

Таким образом, биотоксичность и фитотоксичность в ходе экспериментальных исследований обнаружены не были. Рекомендации о возможности дальнейшего использования в строительстве грунтов, отнесённых к категории опасности «опасная» и «умеренно опасная», подтвердились результатами биотестов.



Рис. 7. Ячейки с рачками *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg в различных концентрациях вытяжек

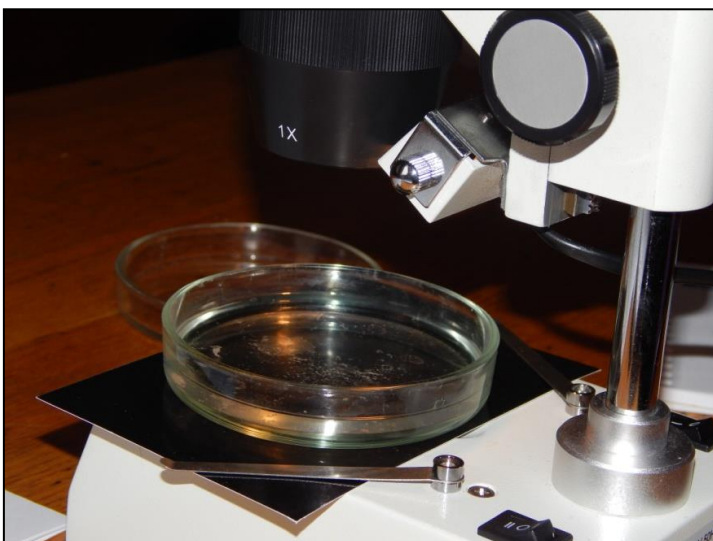


Рис. 8. Чашка Петри с рачками *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg

Оценка биологической активности грунтов

В последующем спектрофотометрическим методом (рис. 9) нами была проведена оценка ферментативной активности исследуемых грунтов. Выбор данного метода был обусловлен тем, что этот метод является на сегодняшний день одним из самых

современных, отличается высокой чувствительностью, быстротой определения, малым расходом фермента и реактивов, и позволяет следить за течением реакции во времени.



Рис. 9. Спектрофотометр *Shimadzu UV mini-1240*, используемый для оценки ферментативной активности грунтов с территории птицефабрики «Мирная»

В качестве анализируемых ферментов были выбраны представители наиболее распространённых классов ферментов: оксидоредуктаз и гидролаз. Исследуемыми ферментами класса оксидоредуктаз являлись пероксидаза и дегидрогеназа, а класса гидролаз – уреазы и фосфатазы. Это наиболее распространённые классы ферментов. Так, гидролазы составляют 90% из более 2000 известных на сегодняшний день ферментов. Оксидоредуктазы играют ведущую роль в биохимических процессах в клетках живых организмов и в грунте.

Результаты проведённых нами экспериментальных исследований показали, что косвенный показатель биологической активности микроорганизмов – ферментативная активность, в соответствии с классификацией Д.С.Звягинцева [12], составила очень высокий уровень активности для большинства ферментов в грунтах поверхностного слоя (табл. 6). При этом для грунтов на глубине 0,3 – 0,4 м, наблюдалось понижение значений ферментативной активности (что соответствует уменьшению общей численности микроорганизмов).

Таблица 6

Биотические свойства исследуемых грунтов

сер	Номер площадки	Глубина отбора, м	ст. микр. орг. аним.	ст. микр. орг. аним. (ОЧ)	ст. микр. орг. аним. (ОЧ)	Ферментативная активность
-----	----------------	-------------------	----------------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------

	отбора				пероксидазная, мг Хинона/1 г/35 мин	дегидрогеназная, мг ТФФ/10 г грунта/сут	уреазная, мг NH_4 /10 г грунта/сут	фосфатазная, мг PO_4 /10г грунта/сут
1	4	0,0-0,2	$1,75 \cdot 10^8$	-	37,1	10,0	29	119
2	10	0,0-0,2	$3,45 \cdot 10^7$	-	39,0	8,3	16	34
3	11	0,0-0,2	$9,44 \cdot 10^{10}$	10^1	-	39,9	13	334
4		0,3-0,4	$1,43 \cdot 10^8$	-	49,5	6,4	122	54
5	16	0,0-0,2	$1,52 \cdot 10^8$	10^4	41,7	7,9	87	97
6		0,3-0,4	$1,23 \cdot 10^8$	-	36,5	7,0	29	56
7	22	0,0-0,2	$3,34 \cdot 10^8$	-	39,1	17,0	57	164
8		0,3-0,4	$6,26 \cdot 10^7$	-	38,8	7,0	28	59
9	23	0,0-0,2	$1,32 \cdot 10^8$	10^2	45,1	10,2	176	259
10		0,3-0,4	$5,86 \cdot 10^8$		31,8	6,8	104	26

При этом фосфатазная активность оказалась наиболее чувствительной к характеру загрязнения данного грунта (рис. 10, 12). Это, вероятно, обусловлено тем, что по фосфатазной активности исследуемый грунт относится к категории очень богатой (по классификации Д.С.Звягинцева). Однако необходимо отметить, что высокие значения фосфатазной активности могли быть в большей степени связаны с содержанием подвижных фосфатов в грунте, а не концентрацией тяжёлых металлов. Фосфатазная активность является одним из ферментов, специализирующихся на реакциях перевода мобилизованных форм фосфатов грунтовых систем в подвижное состояние, что делает их доступными для растений. В исследуемых образцах грунтов содержание подвижных форм фосфора составило от 346 мг/кг грунта в отстойнике №10, где наблюдается наименьшее значение фосфатазной активности (34 мг PO_4 мг /1 г грунта), до 4579 мг/кг грунта в отстойнике №11, где значение фосфатазной активности наибольшие (334 мг PO_4 мг /1 г грунта) (рис. 11). Соответствие значений фосфатазной активности и содержания подвижных фосфатов наблюдается в грунтах всех исследованных отстойников птичьего помёта. Таким образом, фосфатазная активность чувствительна к содержанию подвижных форм фосфора и позволила уверенно выявить преобладающий характер загрязнения для данного грунта.

Следует отметить, что отсутствие чувствительности к содержанию тяжёлых металлов в исследуемых образцах грунтов, не соответствует данным лабораторных

экспериментов по моделированию загрязнения почв тяжёлыми металлами, полученных рядом авторов [2, 15, 16, 17]. При загрязнении почв тяжёлыми металлами в ходе лабораторного опыта, как правило, наблюдается значительное ингибирование большинства ферментативных активностей, а затем их постепенное восстановление до первоначального уровня. В отдельных случаях наблюдается рост ферментативной активности почв, загрязнённых тяжёлыми металлами, до уровня значительно превышающего первоначальную величину. При этом корреляция уровня ферментативной активности и содержания тяжёлых металлов сохраняется (чем выше активность, тем ниже концентрация ТМ). Отсутствие зависимости ферментативных активностей от содержания тяжёлых металлов в образцах грунтов, отобранных из отстойников нефункционирующей птицефабрики, вероятно, обусловлено наличием естественных условий, в которых находились загрязнённые грунты. Следует полагать, что грунтовые системы, находящиеся в природных условиях и имеющие непосредственную связь с другими средами, имеют более полный и сложный набор механизмов для связывания тяжёлых металлов при загрязнении. Таким образом, грунты, загрязнённые тяжёлыми металлами в природных условиях, способны быстро выводить загрязнения из процессов, протекающих в грунтовых системах, оставаясь безопасными для живых организмов. Так, в ходе экспериментальных исследований, несмотря на значительные превышения ПДК по *Zn* и *As*, результаты биотестирования и значения большинства ферментативных активностей загрязнений не выявили. Данный вывод ставит под вопрос правомерность подхода к эколого-геологическому изучению территорий с позиций исследования ПДК тяжёлых металлов и других соединений, принятых для почв.

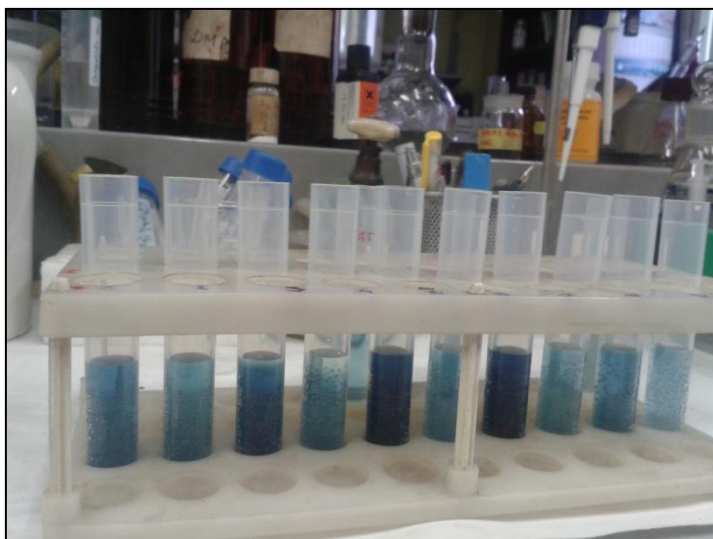


Рис. 10. Вытяжки грунтов при определении фосфатазной активности

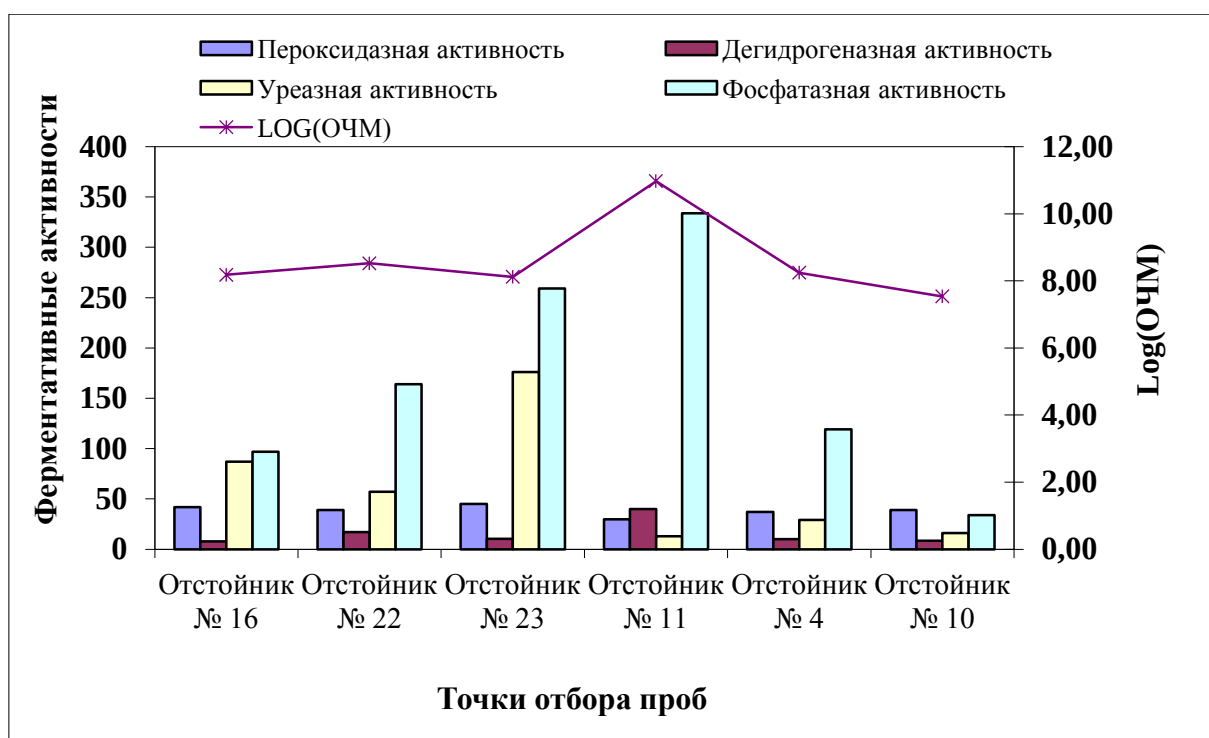
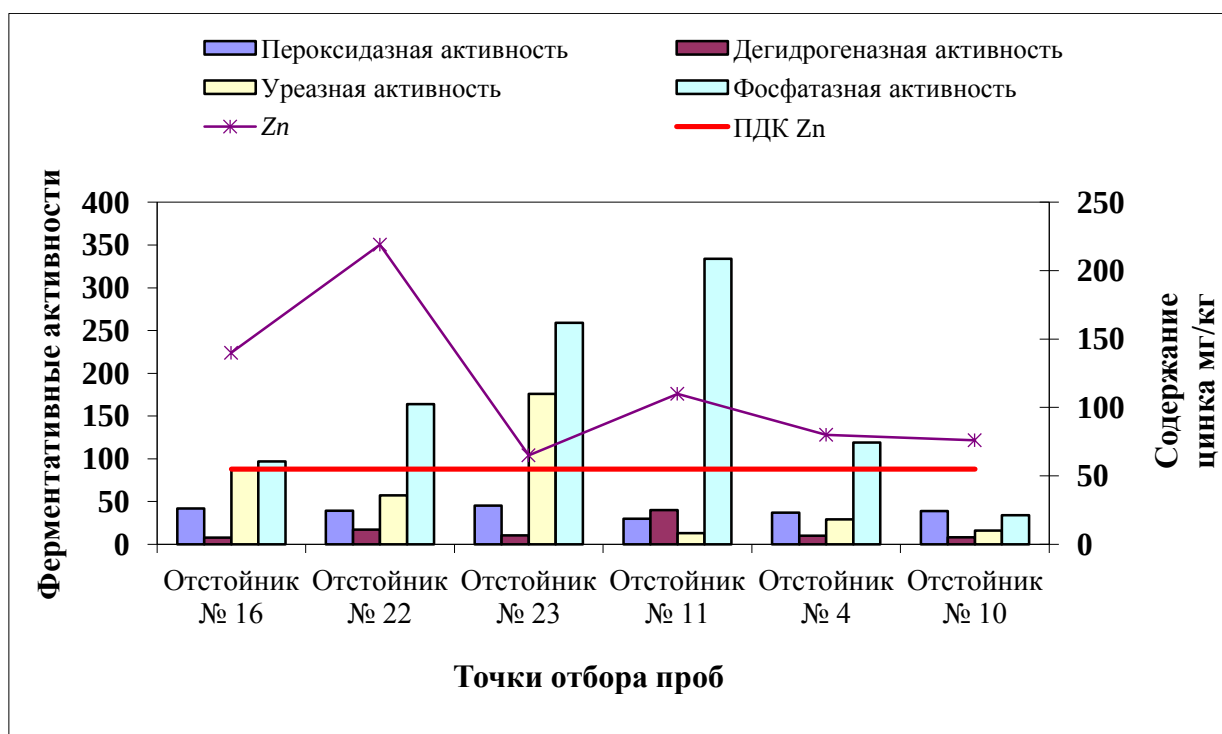
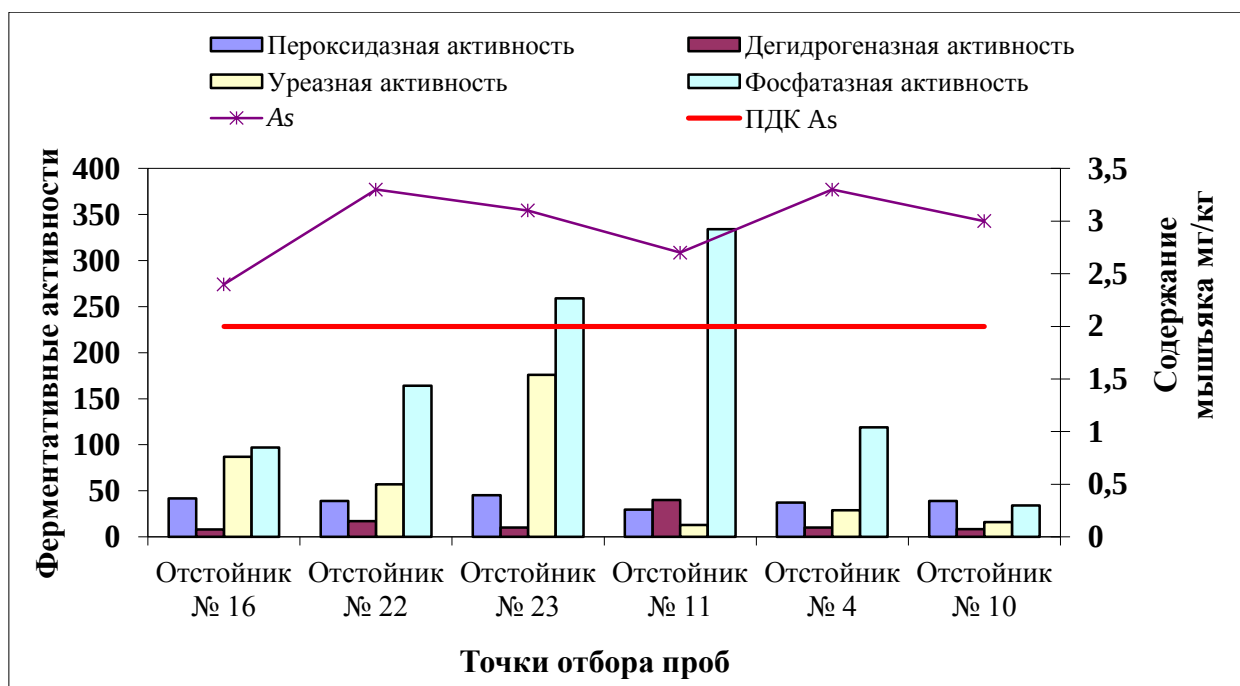


Рис. 11. Зависимость ферментативной активности от общей численности микроорганизмов (значения ферментативных активностей стандартизованы относительно наименьшей величины, полученной в результате проведённых экспериментальных исследований)



а)



б)

Рис. 12. Зависимость ферментативной активности от содержания цинка (а) и мышьяка (б) в исследуемом грунте (значения ферментативных активностей стандартизованы относительно наименьшей величины, полученной в результате проведенных экспериментальных исследований)

Полученные в ходе проведенных исследований результаты подтвердили представления о чувствительности биотических показателей и их информативности для оценки состояния и характера загрязнения грунтов, а также о тесной взаимосвязи результатов биотестирования и косвенных показателей биотических свойств грунтов. При этом наиболее значимым при дальнейших исследованиях грунтов в этом направлении, необходимо выявление наиболее ярко выраженной активности в данном типе грунта.

Заключение

В результате анализа полученных экспериментальных данных, можно сделать вывод о том, что биологические показатели (фитотоксичность, биотоксичность и общая численность микроорганизмов), а также косвенный показатель – ферментативная активность, свидетельствуют в целом об отсутствии на территории нефункционирующей птицефабрики «Мирная» токсического воздействия грунта, отнесенного к категории загрязнения «опасная» и «умеренно опасная», на живые организмы.

Проведенный анализ литературных данных [1, 4, 5, 6, 12] и выполненные нами комплексные экспериментальные исследования свидетельствует о том, что активность ферментов является чутким индикатором вида и интенсивности загрязнения. При этом ферментативная активность – достаточно точный, легко определяемый показатель, который может быть воспроизведен с многократной повторяемостью. Он находится в полном соответствии с био- и фитотоксичностью грунтов, что свидетельствует о возможности использования данного показателя для оценки состояния грунта без дополнительных биологических исследований. На наш взгляд ферментативная активность является перспективным показателем не только для оценки состояния почвенно-растительного слоя, но и для подстилающих грунтов.

В целом же результаты по оценке биотических свойств грунтов могут быть использованы [4] при геологическом обосновании: проектных решений при строительстве; при реализации правовых и экономических механизмов управления

природопользованием, а также как маркирующий показатель при картировании территорий, подвергшихся техногенному воздействию.

Дальнейшие исследования и накопление опытных экспериментальных данных позволит установить характерные виды и величины ферментативной активности для различных типов грунтов и в дальнейшем рекомендовать к рассмотрению возможность включения показателя ферментативной активности в систему инженерно-экологических изысканий в строительстве.

Список литературы

1. Биссвангер Х. Практическая энзимология. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. – 328 с.
2. Валова Е. Э., Цыбенков Ю. Б., Цыбикова Э. В. Влияние тяжёлых металлов на ферментативную активность почв// Ученые записки ЗабГГПУ №1, 2012. 63–66.
3. ГОСТ Р ИСО 22030-2009. Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений. – М.: Стандартинформ, 2010. – 20 с.
4. Григорьева И.Ю., Мартынов Д.В. Возможности и перспективы использования показателя ферментативной активности грунтов при оценке геоэкологического состояния территорий// Материалы годичной сессии Научного совета РАН по проблемам геоэкологии, инженерной геологии и гидрогеологии. Сергеевские чтения. Выпуск 8. – М.: ГЕОС, 2006. – С. 98-102.
5. Грунтоведение/ Трофимов. В.Т., Королёв В.А., Вознесенский Е.А., Голодковская Г.А., Васильчук Ю.К., Зиангиров Р.С. – 6-е изд. – М.: Изд-во МГУ, 2005. – 1024 с.
6. Купревич В.Ф., Щербакова Т.А. Почвенная энзимология. – Минск: Наука и техника, 1966. – 275 с.
7. Практикум по агрохимии: Учеб. пособие/ Под ред. Академика РАСХН Минеева В.Г. – М.: МГУ, 2001. – 689 с.
8. Припачкина Д.П., Григорьева И.Ю., Гладченко М.А. Ферментативная активность как показатель саморегуляции природных систем// Материалы третьего молодёжного инновационного проекта «Школа экологических перспектив»/ Под ред. И.И.Косиновой. – Воронеж: ИПФ «Воронеж», 2014. – С. 127-132.
9. Пшенин В.Н. Особенности обращения с грунтами как отходами при строительстве автомобильных дорог// Красная линия. Дороги, 2009. – № 39. – С. 12-15.
10. СанПиН 2.1.7.1287-03. Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы. URL: http://www.complexdoc.ru/ntdpdf/579053/sanitarno-epidemiologicheskie_trebovaniya_k_kachestvu_pochvy.pdf (дата обращения 19.05.2016).
11. СП 2.1.7.1386-03. Определение класса опасности токсичных отходов производства и потребления. URL: http://ohranatruda.ru/ot_biblio/normativ/data_normativ/39/39761/ (дата обращения 22.05.2016).
12. Титова В.И. Агро- и биохимические методы исследования состояния экосистем: учеб. пособие для ВУЗов. – Н. Новгород: Изд.-во ВВАГС, 2011. – 170 с.
13. Тугарин С. Куриный освенцим// Газета «Томилинская Новь» (Администрации посёлка Томино Люберецкого района Московской области) URL: <http://old.tomilino.com/?p=242> (дата обращения 20.05.2016)
14. Федеральный Закон № 89 «Об отходах производства и потребления (с изменениями на 28 ноября 2015 года) URL: <http://docs.cntd.ru/document/901711591> (дата обращения 20.05.2016)

15. Щелчкова М.В., Стручкова Л.К., Фёдоров И.А. Комплексное влияние тяжелых металлов на ферментативную активность и эффективное плодородие мерзлотной лугово-черноземной почвы // Вестник СВФУ, 2010. С. 16-22.

16. Mulligan C.N., Yong C.N., Mulligan, R.N., Gibbs B.F. et al. Metal removal from contaminated soil and sediments by the biosurfactant surfactin // Environ. Sci. Technol. 1999 в. Vol. 33. P. 3812-3820.

17. Trasar-Cepeda C., Leirós M.C., Seoane S. F., Gil-Sotres F. Imitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. Soil Biology and Biochemistry. Volume 32, Issue 13, November 2000, Pages 1867–1875.

Краткое содержание статьи

При инженерно-экологических изысканиях грунты должны быть убраны со строительных площадок по окончании строительства и подвергнуты (по возможности) вторичному использованию (утилизации), либо захоронены на полигонах. При тех объемах, которые свойственны современному строительству и качеству грунтов, суммы платежей за негативное воздействие грунтов-отходов на окружающую среду могут исчисляться десятками и сотнями миллионов рублей.

Критерием, определяющим применимость грунта-отхода в строительстве, является степень его загрязнения и опасности по отношению к живым организмам. Класс опасности отходов может быть установлен расчетным путем на основании результатов химико-аналитических исследований проб грунтов, отобранных в ходе инженерно-экологических изысканий. Однако для подтверждения принадлежности грунтов как отходов к V классу опасности обязательным является использование также и экспериментального метода. При отсутствии экспериментального подтверждения V класса опасности, контролирующие государственные органы автоматически относят отходы к IV классу опасности, что многократно увеличивает размер экологических платежей. В сложившейся ситуации нами была предпринята попытка рассмотрения вопросов оценки класса опасности грунтов как отходов с позиций анализа их свойств, и в частности, биотических.

При этом необходимо отметить, что применение прямых оценок биотических характеристик грунта (к примеру, общая численность микроорганизмов) не является целесообразным (и соответственно рентабельным) при проведении инженерно-экологических изысканий. Это связано с тем, что динамика численности и видового соотношения микроорганизмов крайне высока. В связи с этим наиболее объективными методами оценки биотических свойств грунта являются косвенные методы, основанные на выявлении характеристик, отражающих интенсивность тех или иных процессов жизнедеятельности организмов в грунте. К характеристикам данного типа относятся ферментативная активность. Именно ферменты являются постоянно действующим фактором, определяющим направленность и интенсивность процессов распада и окисления органических веществ, поступающих в грунт. При этом ферментативная активность – достаточно точный, легко определяемый показатель, который может быть воспроизведен с многократной повторяемостью. Он находится в полном соответствии с био- и фитотоксичностью грунтов, что свидетельствует о возможности использования данного показателя для оценки состояния грунта без дополнительных биологических исследований.

Опыт применения ферментативной активности в комплексе инженерно-экологических изысканий был получен нами в ходе исследований состояния территории нефункционирующей птицефабрики «Мирная» Люберецкого района Московской области. Особенностью территории является наличие прудов-отстойников птицефабрики «Мирная», в которых в период ее работы накапливался куриный помет. Детальное изучение химического состава выявило содержание As и Zn значительно превышающее

ПДК во всех грунтах, относящихся к категории загрязнения «опасная» и «умеренно опасная».

Результаты проведенных нами экспериментальных исследований по оценке микробиологического состава, биотоксичности и ферментативной активности грунтов на территории нефункционирующей птицефабрики «Мирная» позволяют сделать вывод о том, что биологические показатели (фитотоксичность, биотоксичность и общая численность микроорганизмов), а также косвенный показатель – ферментативная активность, свидетельствуют об отсутствии токсического воздействия грунта, отнесённого по содержанию As и Zn к категории загрязнения «опасная» и «умеренно опасная», на живые организмы.

Данный вывод ставит под вопрос правомерность подхода к эколого-геологическому изучению территорий с позиций исследования ПДК тяжёлых металлов и других соединений, принятых для почв. И делает, на наш взгляд, перспективным использование показателя ферментативной активности в комплексе инженерно-экологических изысканий.

Summary of the article

Soils should be removed from construction sites upon completion of construction and subjected to (possible) re-use (recycling) or buried in landfills for engineering-ecological surveys. At those volumes which are required in modern construction and soil quality, the amount of payments for negative impact of soil-waste on the environment can amount to tens and hundreds of millions of rubles.

The degree of soil contamination and danger to living organisms is criterion determining the applicability of soil-waste in construction. Waste hazard class can be set by basis calculation of the soil chemical analysis results samples taken during engineering and environmental surveys. However, to classify soil as waste to the V class of danger it is obligatory to use also the experimental method. In the absence of experimental confirmation of V danger class, regulatory authorities automatically refer to the waste hazard class IV, which greatly increases the amount of environmental payments. In the current situation, we attempted to consider issues of assessment of hazard class of soils as waste from the standpoint of the analysis of their properties, and in particular, biotic.

It should be noted that the use of direct estimates of the biotic characteristics of the soil (for example, the total number of microorganisms) is not appropriate (and therefore profitable) when carrying out engineering-ecological surveys. This is because of the fact that the dynamics of abundance and micro-organism species is extremely high. In this regard, the most objective method of assessing biotic properties of soil is indirect method based on the identification of characteristics that reflect the intensity of certain processes of organisms in the soil. The characteristics of this type are the enzymatic activity. It is the enzymes that are permanently an operating factor in determining the direction and intensity of decay processes and oxidation of organic substances that are entering the soil. Enzymatic activity in this case is fairly accurate, easily identifiable figure that can be played with multiple repetition. It is in full compliance with the bio - and phytotoxicity of the soil, which indicates the possibility of using this indicator to assess ground state without additional biological studies.

Enzymatic activity use experience in the complex engineering-ecological surveys has been received by us in the course of investigations of the territory of a non-functioning integrated poultry farm «Mirnaya» Moscow region Lyubertsy district. The presence of poultry «Mirnaya» ponds where chicken droppings were accumulated is the peculiarity of this territory. A detailed study of the data of the chemical composition revealed the contents of As and Zn significantly greater than the MCL in all soils belonging to the category of pollution "threat" and "medium risk".

The results of our experimental studies to assess microbiological biotoxicity composition and soil enzymatic activity of territory of a non-functioning integrated poultry farm «Mirnaya»

lead to the conclusion that the biological indicators (phytotoxicity, biotoxicity and the total number of micro-organisms) as well as an indirect indicator - the enzymatic activity show the absence of soil toxic effects of As and Zn contamination and list the territory to the category "dangerous" and "moderately hazardous» for living organisms.

This finding calls into question the validity of the approach to eco-geological study area from the standpoint of study MPC heavy metals and other compounds taken to soil. And it makes, from our point of view, use of indicator enzyme activity in complex engineering-ecological surveys promising.

References

1. Bisvanger X. Prakticheskaya enzimologiya [Practical Enzymology]. M.: Binom. Laboratoriya Znaniy, 2013. 328 p. (Rus.).
2. Valova E.E., Tsybenov Y.B., Tsybikova E.V. Vliyanie tyazelih metallov na fermentativnuyu aktivnost pochv [Influence of heavy metals on the enzymatic activity of soil]// Scientific notes ZabGGPU №1, 2012. 63-66. (Rus.).
3. GOST R ISO 22030-2009. The quality of the soil. Biological methods. Chronic phytotoxicity to higher plants. – M.: STANDARTINFORM, 2010. - 20 p.
4. Grigorieva I.U., Martinov D.V. Vozmozhnosty y perspektivy ispolzovaniya pokazatelya fermentativnoy aktivnosti gruntov pre ozenke geoecologicheskogo sostoyaniya territory [Opportunities and prospects of using the indicator of the enzymatic activity of soils in the assessment of geo-ecological state of the territories]// Sergeevskiy chteniye. Ingenerno-ecologicheskoye izeskaniye v stroitelstve: teoreticheskoye osnovy, metodyka, metody y praktika. No 8.–M.: GEOS, 2006, pp. 98-102. (Rus.).
5. Gryntovedenie [Soil]/ Trofimov. V.T., Korolev V.A., Voznesenskiy E.A., Grodkovskaya G.A., Vasil'chuk Y.K., Ziangirov R.S. – 6-e Izd. – M.: Izd-vo MGU, 2005. – 1024 p. (Rus.).
6. Kuprevich V.F. Pochvennaya enzimologiya [Soil Enzymology]. –M.: Nauka y Tekhnika, 1966. 276 p. (Rus.).
7. Practicum po agrokimii [Workshop on agricultural chemistry]: Tutorial/ Under the editorship of Academician of the RAAS Mineev V. G. – M.: MSU, 2001. – 689 p. (Rus.).
8. Pripachkina D.P., Grigorieva I. Yu., Gladchenko M. A. Fermentativnaya aktivnost kak pokazatel samoregulyatsii prirodnih system [Enzyme activity as an indicator of self-regulation natural systems]// Third Youth Innovative project "School environmental perspectives", ed. by I. I. Kosinova. – Voronezh: IPF "Voronezh", 2014. – P. 127-132. (Rus.).
9. Pshenin V.N. Osobennosti obrasheniya s gruntami kak otkhodami pri stroitelstve avtomobilnykh dorog Osobennosti obrasheniya s gryntami kak s otkhodami avtomobilnykh dorog [Especially for the treatment of soils as waste in construction of roads]// Red line. Road, 2009. – № 39. – P. 12-15. (Rus.).
10. SanPiN 2.1.7.1287-03. Sanitary and epidemiological requirements to soil quality. URL: http://www.complexdoc.ru/ntdpdf/579053/sanitarno-epidemiologicheskie_trebovaniya_k_kachestvu_pochvy.pdf (accessed 19.05.2016) (Rus.).
11. SP 2.1.7.1386-03. Definition of hazard classes of toxic wastes of production and consumption. URL: http://ohranatruda.ru/ot_biblio/normativ/data_normativ/39/39761/
12. Titova V.I. Agro- i biohimicheskie metody issledovaniya sostoyaniya ecosystem [Agro - and biochemical methods of study of ecosystems]: Proc. the manual for high schools. – N. Novgorod: Izd.-in VVAGS, 2011. – 170 p. (Rus.).
13. Tugarin S. Chicken Auschwitz// Newspaper "Tomilinskaya Nov" (Administration of the village of Tomilino, Lyubertsy district, Moscow region) URL: <http://old.tomilino.com/?p=242> (accessed 20.05.2016).
14. Federal Law № 89 "On waste of production and consumption (as amended on 28 November 2015) URL: <http://docs.cntd.ru/document/901711591> (accessed 20.05.2016).

15. Shchelchkova M.V., Struchkova L.K., Fedorov I.A. Kompleksnoe vliyanie tyazelih metallov na fermentativnuyu aktivnost i effektivnoe plodorodie merzlotnoi lugovo-chernozemnoi pochvi [Complex influence of heavy metals on enzyme activity and effective fertility permafrost meadow-chernozem soil]// Herald NEFU, 2010. P. 16-22. (Rus.).
16. Mulligan C.N., Yong C.N., Mulligan, R.N., Gibbs B.F. et al. Metal removal from contaminated soil and sediments by the biosurfactant surfactin // Environ. Sci. Technol. 1999 v. Vol. 33. P. 3812-3820.
17. Trasar-Cepeda C., Leirós M.C., Seoane S. F., Gil-Sotres F. Imitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. Soil Biology and Biochemistry. Volume 32, Issue 13, November 2000, Pages 1867–1875.