

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

имени М.В. ЛОМОНОСОВА

ГЕОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Садов Сергей Сергеевич

**Эколого-геологический подход к оценке класса опасности
песчано-глинистых грунтов как отходов
строительной деятельности**

Специальность 1.6.21. Геоэкология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата геолого-минералогических наук

Научный руководитель:
кандидат геолого-минералогических наук,
доцент Григорьева Ия Юрьевна

Москва – 2025

Оглавление

Введение.....	4
Глава 1. Современные подходы и практика обращения с грунтами, попадающими в категорию отходов при осуществлении строительной деятельности.....	13
1.1. Объёмы и специфика образования песчано-глинистых грунтов, попадающих в категорию отходов, при осуществлении строительной деятельности	13
1.2. Существующие подходы к оценке класса опасности отходов и их недостатки при обращении с <i>песчано-глинистыми</i> грунтами	17
1.2.1. Химико-аналитические методы.....	17
1.2.2. Биологические методы: биотестирование с применением культур гидробионтов и фитотестирование	20
1.2.3. Статистические методы обработки данных при оценке класса опасности отхода	26
1.3. Требования нормативных и правовых документов по вопросам обращения с отходами строительства в Российской Федерации и за рубежом.....	29
1.4. Экологические риски при неправильной утилизации грунтов	33
Выводы к главе 1	37
Глава 2. Биологическая составляющая грунтов и проявления ее активности как один из факторов экотоксичности при оценке класса опасности	39
2.1. Общая характеристика биологической составляющей грунтов	39
2.1.1 Качественные характеристики и условия существования биотической составляющей в грунтах.....	42
2.1.2 Влияние жизнедеятельности биоты на состав, строение, состояние и свойства грунтов	47
2.2. Роль микробиологической составляющей при оценке экотоксичности	52
Выводы к главе 2	56
Глава 3. Характеристика объектов исследования для проведения химико-аналитических и экотоксикологических исследований.....	57
3.1. Выбор и характеристика исследуемых грунтов	57
3.2. Выбор и характеристика применяемых тест-культур высших растений.....	63
3.2.1. Горчица белая (<i>Sinapis alba</i>)	63
3.2.2. Сорго сахарное (<i>Sorghum saccharatum</i>)	66
3.2.3. Кресс-салат (<i>Lepidium sativum</i>)	68
3.3. Выбор и характеристика используемых тест- тест-культур гидробионтов.....	70
3.3.1 Рачки <i>Daphnia magna</i>	70
3.3.2. Зеленые протококковые водоросли <i>Scenedesmus quadricauda</i>	72
Выводы к главе 3	74
Глава 4. Методика экспериментальных исследований для обоснования класса опасности грунтов	76
4.1. Методика определения острой токсичности грунтов	76

4.1.1 Планшетное аппликатное фитотестирование грунтов.....	77
4.1.2 Биотестирование грунтов с применением раков.....	80
4.1.3 Биотестирование грунтов с применением водорослей.....	84
4.2. Методика определения хронической токсичности грунтов.....	87
Выводы к главе 4.....	90
Глава 5. Результаты экотоксикологических исследований и оценка класса опасности песчано-глинистых грунтов	91
5.1. Оценка расчетного класса опасности с учетом химико-аналитических исследований	91
5.2. Оценка установленного расчетным методом класса опасности с применением экотоксикологических исследований	94
5.2.1. Подтверждение класса опасности с применением <i>Daphnia magna Straus</i>	94
5.2.2. Подтверждение класса опасности с применением <i>Scenedesmus quadricauda</i>	96
5.3. Оценка расчетного класса опасности с учетом результатов фитотестирования.....	98
5.3.1. Результаты проведения эксперимента по определению острой токсичности	98
5.3.2. Результаты проведения эксперимента по определению хронической токсичности..	102
5.4. Интегральная оценка класса опасности песчано-глинистых грунтов с применением фитотестирования.....	109
Выводы к главе 5	110
Глава 6. Обоснование методических подходов к оценке класса опасности песчано-глинистых грунтов с эколого-геологических позиций	112
6.1. Предлагаемый методический подход к оценке класса опасности песчано-глинистых грунтов.....	112
6.2. Ориентировочная оценка экономической эффективности предложенного подхода	118
Выводы к главе 6	120
Заключение	122
Список литературы	126
Приложение 1. Показатели состава и свойств грунтов, используемых для приготовления контрольных образцов	141
Приложение 2. Интенсивность флуоресценции хлорофилла <i>Scenedesmus quadricauda</i>	142
Приложение 3. Расчет стоимости оценки класса опасности грунтов (в ценах II квартала 2025 года)	147

Введение

Актуальность работы

На сегодняшний день главным нормативным документом, регулирующим применение экотоксикологических исследований в системе обращения с отходами, является Приказ Минприроды России от 04.12.2014 № 536 "Об утверждении Критерииев отнесения отходов к I–V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду". В соответствии с этим документом, основными методами оценки состояния грунтов и отходов остаются химико-аналитические исследования, которые базируются на сравнении фактических концентраций загрязняющих веществ с предельно допустимыми или ориентировочными уровнями их содержания. Однако такой подход уже не соответствует современным реалиям: количество известных химических соединений, способных оказывать токсическое влияние на биоту, превышает миллион наименований, при этом ежегодно создается более 250 тысяч новых веществ, из которых лишь около 0,01% имеют установленные нормативы безопасности (Григорьева и др., 2022). Это делает исключительно химико-аналитический подход принципиально недостаточным для объективной оценки экологического состояния грунтов, особенно в условиях активного антропогенного воздействия.

В последние годы объемы изымаемых грунтов значительно возросли, что связано с интенсивным развитием строительной отрасли. Например, в Москве и Московской области, в рамках реализации масштабных проектов, таких как расширение метрополитена, строительство крупных автомагистралей (например, Северный скоростной диаметр, Северо-Восточная Хорда, Юго-Восточная Хорда и другие), реконструкция территорий бывших промышленных предприятий и модернизация улично-дорожной сети, вырабатывается огромное количество грунтов, подлежащих классификации и дальнейшему использованию или захоронению, исходя из оценок класса их опасности. Особенно значительна доля песчано-глинистых грунтов - именно они составляют основную массу изъятого материала при проведении земляных работ. Эти грунты формируют сложные многокомпонентные системы, в которых многие загрязняющие вещества могут быть связаны с твердой минеральной компонентой, а также взаимодействовать с микробиологической компонентой грунта, что существенно влияет на их биодоступность и токсичность. В связи с ростом объемов изъятия и повторного использования этих грунтов, вопросы их экотоксикологической оценки становятся все более актуальными.

Такие грунты, как правило, не подвергаются полному анализу на предмет наличия скрытых форм загрязнения, поскольку исследования в рамках инженерно-экологических изысканий ограничиваются химическим анализом стандартного перечня элементов и химических соединений. При этом, как показывают исследования ряда авторов, даже при отсутствии превышений ПДК/ОДК, сам грунт может содержать биологически значимые загрязнители, такие

как патогенная микрофлора, неидентифицированные органические соединения, адсорбированные на частицах грунта, или комплексные формы тяжелых металлов, не переходящие в раствор. Именно поэтому использование только химико-аналитических методов не позволяет в полной мере оценить степень экологического риска, связанного с дальнейшим оборотом изымаемых грунтов. Такая ситуация обуславливает необходимость широкого внедрения в практику инженерно-экологических изысканий экотоксикологических методов, позволяющих комплексно оценивать токсический эффект, включая действие неизвестных или малых концентраций загрязнителей, а также их синергизм.

Актуальность применения экотоксикологических исследований особенно высока в условиях Москвы и Московской области, где строительная деятельность сопряжена с извлечением грунтов с глубин до 40 метров и выше, в том числе и тех, которые находились вне влияния поверхностных источников загрязнения, но могли аккумулировать токсиканты в течение длительного времени. На фоне увеличения объемов переработки грунтов в городских условиях, возрастает вероятность перемещения потенциально загрязненных массивов в новые места без должной проверки их экологической опасности.

Степень разработанности вопроса

В настоящее время изучением особенностей, научным обоснованием и возможностями практического применения экотоксикологических методов исследований вообще, и биотестирования, в частности, в основном занимаются исследователи в области химии, биологии, экологии и природопользования, почвоведения. Однако в работах этих авторов отсутствуют грунты как объект исследований. В отличие от почв, грунты как объекты экотоксикологических исследований изучены значительно слабее, несмотря на важность оценки их состояния при проведении инженерно-экологических изысканий. Некоторые отечественные исследователи, такие как Багдасарян А.С., Бурдина В.М., Герман К.Э., Григорьева И.Ю., Гроздов Д.С., Куриленко В.В., Лисовицкая К.Л., Литти Ю.В., Попова Н.М., Сафонов А.В., Соколова Д.С., Терехова В.А., Тимофеева С.С., Федосеева Е.В., Фомин Г.С., и другие затрагивали аспекты био- и фитотестирования в отношении грунтовых систем. Среди зарубежных авторов данными вопросами занимались: Aranda E., Drobnewska A., Casado-Martinez, M. C., Folkerts A.J., Guan, R., Kabata-Pendias A., Kursa-Mikołajczak M., Nakagawa, T., Nalecz-Jawecki G., Persoone G., Pendias H., Ruck J.G., Smith B.D., Sumorok B., Tan Q-G., Vaal M.A., Wang W-X., Wolska L., Yamaoka, K., и другие. В некоторых работах данных авторов отдельно отмечается необходимость более подробного анализа существующих методик и системы оценки класса опасности различных сред, в том числе и грунтов. Однако большая часть исследований ограничивалась лишь рамками почвенных систем, оставляя грунты без должного анализа.

Это создает пробел в методологиях оценки токсичности, и как результат - комплексной оценки класса опасности, особенно в отношении песчано-глинистых грунтов, часто изымаемых в результате строительной деятельности, где традиционные методы анализа водной среды могут не выявить биологически значимые загрязнения, связанные с микробиологической активностью или адсорбированными на поверхности частиц грунта токсикантами.

В связи с этим **целью работы** является обоснование с эколого-геологических позиций необходимости внесения изменений в существующую систему оценки класса опасности грунтов как отходов строительной деятельности.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие **задачи**.

1. Сбор и анализ литературных данных о современных подходах к оценке класса опасности грунтов как отходов, а также о существующих методах их экотоксикологической оценки.
2. Критическая оценка недостатков действующей системы установления класса опасности отходов в отношении грунтов, как объекта исследований.
3. Выбор объектов исследования и определение показателей их состава и свойств.
4. Проведение оценки класса опасности отобранных грунтов согласно регламенту действующей государственной системы, и проверка результатов с применением предложенных авторами изменений.
5. Разработка рекомендаций к совершенствованию действующей методики оценки класса опасности песчано-глинистых грунтов как отходов строительной деятельности.

Объект исследования

В качестве объекта исследований были выбраны песчано-глинистые грунты, отобранные с действующих стройплощадок в пределах территории города Москвы. При выборе мест отбора учитывался прежний характер использования территорий, а также наличие в непосредственной близости потенциальных источников загрязнения. Образцы отбирались с бывших территорий свалок, автомобилестроительных предприятий, а также участков строительства улично-дорожных сетей и линий московского метрополитена.

В дополнение к отобранным грунтам, для проведения экотоксикологических исследований требуется приготовление контрольных образцов. Для этого, с целью проверки значимости влияния исходного материала, с территорий различных месторождений и горных выработок были отобраны чистые кварцевые пески и использована отмытая каолиновая глина.

В качестве тест-культур и организмов в данном исследовании выступали высшие растения: горчица белая (*Sinapis alba L.*), сорго сахарное (*Sorghum saccharatum (L.) Moench*), кресс-салат

(*Lepidium sativum L.*), ракчи *Daphnia magna*, а также протококковые водоросли *Scenedesmus quadricauda*.

Предмет исследования

Изучение влияния особенностей химического состава, биологической компоненты и процессов, обусловленных динамичностью и многокомпонентностью грунтовых систем, на высшие растения и гидробионтов, применяемых при экотоксикологических исследованиях.

Научная новизна

1. На основе экспериментальных исследований выявлено биологически значимое влияние микробиологической составляющей грунтовой системы на высшие растения. При инициации микробного сообщества в песчано-глинистых грунтах эффект токсичности по отношению к высшим растениям увеличивается вне зависимости от их химического, минерального или гранулометрического состава.

2. Установлено и экспериментально доказано отсутствие прямой зависимости между наличием превышений содержания ПДК/ОДК элементов и различных соединений, и реакцией высших растений. Биологически значимое загрязнение может быть, как ниже, так и выше установленных нормативов и обусловлено наличием неустановленных при химико-аналитических исследованиях соединений, а также антагонистическим или синергетическим эффектом определенных.

3. Уточнена методика планшетного аппликатного фитотестирования. Установлено существенное влияние «барьерного» типа контакта семян высших растений на доступность токсичных соединений в песчано-глинистых грунтах. При отсутствии фильтровальной бумаги, как дополнительного «барьера» между поверхностью субстрата (грунта) и семенем, токсический эффект значительно усиливается.

4. Экспериментально установлено, что биотестирование, основанное на использовании водной вытяжки из грунта, не отображает реальный биологически значимый токсический эффект, в отличие от методов аппликатного фитотестирования, подразумевающего контакт с поверхностью грунта тест-культур высших растений.

Теоретическая и практическая значимость

При оценке биологической значимости и степени токсического воздействия загрязнения в песчано-глинистых грунтах, необходимо учитывать физические и химические связи, а также сорбционные процессы в грунтах, которые влияют на доступность содержащихся в исследуемом субстрате (грунте) ряда элементов и токсичных соединений высшим растениям и в особенности – для водных тест-организмов, использующих поровый раствор или водную вытяжку из грунтов,

содержащие только водорастворимые формы соединений. В связи с этим именно высшие растения, благодаря непосредственному контакту корневой системы с грунтом, могут в полной мере оценить наличие биологически значимого загрязнения. Кроме этого установлено, что особое влияние оказывает микробиологическая активность биологической компоненты грунта, которая напрямую зависит от способа тестирования.

Практическая значимость работы заключается в экспериментальном обосновании эффективности предложенной модели оценки класса опасности грунтов, как отходов строительной деятельности. Предоставлено обоснование необходимости включения в перечень проводимых экотоксикологических исследований планшетного аппликатного фитотестирования и метода оценки микробного токсикоза, как косвенного показателя оценки биотических свойств грунта, доступного для широкого применения.

Результаты работы могут быть рекомендованы к использованию для совершенствования современной системы оценки класса опасности отходов, в отношении песчано-глинистых грунтов, а также в практике, применяемой в рамках инженерно-экологических изысканий.

Фактический материал

Песчано-глинистые грунты были отобраны с территорий действующих строительных площадок в пределах города Москвы: бывшая территория свалки (район Москворечье-Сабурово, ЮАО), участки строительства улично-дорожной сети (район Восточное Дегунино, САО), строительства линий московского метрополитена (район Коммунарка, НАО), бывшая территория автомобилестроительного предприятия (Даниловский район, ЮАО).

Для приготовления контрольных грунтов были отобраны кварцевые пески с территорий: месторождения Люберецкого горно-обогатительного комбината (г. Москва), месторождения «Мураевня» (Рязанская обл.), месторождения «Гора Хрустальная» (Свердловская обл.).

В рамках экспериментальных исследований было проведено для определения острой токсичности: 252 единичных планшетных фитотестирования (использовано и проанализировано 2720 семян высших растений); выведена синхронизированная культура *Daphnia magna Straus*, с целью посадки (700 особей) в водные вытяжки из анализируемых грунтов. Для оценки хронической токсичности выполнен эксперимент, включающий 94 единичных фитотестирования (940 семян высших растений) с использованием чашек Петри.

По результатам экспериментов было измерено и статистически обработано более 7000 единичных показателей морфометрических характеристик используемых тест-культур высших растений, оценена выживаемость 700 особей раков *Daphnia magna Straus* и определен уровень флюoresценции хлорофилла водорослей *Scenedesmus quadricauda* в 60 анализируемых пробах (водных вытяжках из грунтов).

Личный вклад автора заключается в отборе и изучении состава и свойств исследуемых песчано-глинистых грунтов, отборе исходного материала и приготовлении контрольных проб для экотоксикологических исследований, оценке расчетного класса опасности на основе химико-аналитических исследований изучаемых грунтов. Проведении серии экспериментальных исследований эллюатными методами биотестирования с применением гидробионтов (*Daphnia magna* и *Scenedesmus quadricauda*); экспериментов по оценке острой токсичности с применением метода планшетного аппликатного фитотестирования с использованием высших растений (*Sinapis alba* и *Sorghum saccharatum*). В экспериментальном определении хронической токсичности исследуемых грунтов с применением метода оценки микробного токсикоза с использованием в качестве тест-культуры крестоцвета (*Lepidium sativum*). Разработке рекомендаций по совершенствованию действующей системы оценки класса опасности отходов в отношении песчано-глинистых грунтов как объекта исследования.

Методология и методы исследования

С целью реализации поставленных задач проводилось определение минерального, химического, гранулометрического состава и физических свойств исследуемых песчано-глинистых грунтов, отобранных кварцевых песков и приготовленных контрольных грунтов. На основании полученных результатов оценивался класс опасности регламентированным расчетным методом. В основной части диссертационного исследования – экспериментальной, были использованы методы экотоксикологических исследований, регламентированные следующими нормативами: ГОСТ Р ИСО 18763—2019¹; ФР.1.39.2007.03222²; ФР.1.39.2007.03223³.

Экспериментальные исследования по анализу состава и свойств песчано-глинистых грунтов, кварцевых песков и контрольных проб, а также оценка наличия микробного токсикоза проводилась на базе лаборатории «Грунтоведения и технической мелиорации грунтов» кафедры инженерной и экологической геологии геологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова и испытательного центра (ИЦ) группы компаний «Мосинжпроект», расположенного в компании ООО «Институт «Мосинжпроект». Биотестирование с применением водных тест-организмов (*Daphnia magna* и *Scenedesmus quadricauda*) проводилось на базе научно-исследовательской

¹ ГОСТ Р ИСО 18763—2019 «Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях высших растений»

² ФР.1.39.2007.03222 «Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний»

³ 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»

лаборатории кафедры общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова. Эксперимент по аппликатному планшетному фитотестированию проводился в лаборатории экотоксикологического анализа почв МГУ имени М.В.Ломоносова («ЛЭТАП») и ИЦ ООО «Институт «Мосинжпроект». Обработка данных фитотестирования велась с помощью программного комплекса «ImageJ».

Положения, выносимые на защиту

1. Существующая методика экотоксикологических исследований песчано-глинистых грунтов как отходов строительной деятельности для оценки класса их опасности должна быть скорректирована с учетом их особенностей: помимо анализа токсичности водной вытяжки с применением культур гидробионтов необходимо проводить фитотестирование, предусматривающее непосредственный контакт растений с грунтом, позволяющее более точно определить проявление острой токсичности грунта. Данный подход к оценке класса опасности грунтов позволит разделять их объемы на две группы, одна из которых не будет требовать проведения дальнейших химико-аналитических исследований.

2. При выполнении экотоксикологических исследований, направленных на установление класса опасности песчано-глинистых грунтов, необходимо проведение оценки биотических свойств грунтов, обусловленных жизнедеятельностью микроорганизмов, характеризующих проявление хронической токсичности, имеющей важное значение при определении класса опасности. В качестве метода оценки для широкого применения может быть рекомендована методика оценки микробного токсикоза.

3. Первоочередное проведение аппликатного фитотестирования и учет хронической токсичности, обусловленной жизнедеятельностью микроорганизмов как биотической составляющей грунтовых систем, приводит к наиболее достоверному и точному определению биологической значимости уровня и состава загрязнения в песчано-глинистых грунтах как отходах строительной деятельности, а также позволяет существенно сократить экономические и временные затраты на определение класса опасности при оценке больших объемов грунтов.

Степень достоверности работы обеспечивается квалифицированным рецензированием опубликованных результатов, а также полнотой и репрезентативностью как литературных данных, так и фактического материала, собранного в ходе лабораторных исследований. Для анализа использовались современные методы эколого-геологических исследований, включая компьютерные технологии обработки данных, что позволило повысить точность и объективность оценки.

Апробация результатов

Основные положения диссертационной работы докладывались и обсуждались на конференциях:

1. XX Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы экологии и природопользования». г. Москва. РУДН, 25 апреля 2019 г.
2. X Международная научная конференция молодых ученых «Молодые – Наукам о Земле». г. Москва. РГГУ имени Серго Орджоникидзе, 31 марта 2022 г.
3. Международная конференция «Ломоносов 2022». Секция «Экологическая геология». г. Москва. МГУ имени М.В. Ломоносова, 15 апреля 2022 г.
4. Общероссийская научно-практическая конференция «Инженерно-экологические изыскания – нормативно-правовая база, современные методы и оборудование». г. Москва. Бизнес-отель "Бородино", 16 сентября 2022 г.
5. Международная молодежная научная школа «Ремедиация почв: инновационные подходы к восстановлению экологических функций». г. Москва. МГУ имени М.В. Ломоносова, 30 августа 2023 г.
6. Всероссийская научная конференция XXVI СЕРГЕЕВСКИЕ ЧТЕНИЯ "Массивы грунтов как жизнеобеспечивающий ресурс общества". г. Псков, 27 марта 2025 г.

Публикации автора по теме диссертации

Основные идеи и результаты работы изложены в 4 научных работах, в том числе в 3 статьях (общим объемом 3,6 п.л., объем вклада соискателя – 1,49 п.л.) в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова по специальности 1.6.21. Геоэкология: "Геоэкология. Инженерная геология. Гидрогеология. Геокриология" (2024, №5); "Инженерные изыскания" (2023, Т.17, №4; 2024, Т.18, №1).

Структура работы

Диссертационная работа состоит из введения, 6 глав, заключения, списка литературы из 184 наименований, а также 3 приложений. Она изложена на 151 странице машинописного текста, содержит 9 таблиц и 49 рисунков.

Благодарности

Основная идея, постановка работы, весь объем выполненных теоретических и экспериментальных исследований, был выполнен под руководством кандидата геолого-минералогических наук, доцента Григорьевой И.Ю., на кафедре инженерной и экологической геологии геологического факультета МГУ. Экспериментальные исследования с применением водных тест-организмов (*Daphnia magna* и *Scenedesmus quadricauda*) проводились

на кафедре общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ, под руководством кандидата биологических наук Гершкович Д.М. Автор выражает искреннюю благодарность за предоставление условий и материалов для проведения эксперимента, ценные советы, всестороннее внимание и критические замечания в ходе проведения исследований и в процессе написания текста работы.

Глава 1. Современные подходы и практика обращения с грунтами, попадающими в категорию отходов при осуществлении строительной деятельности⁴

В условиях активного развития строительной отрасли и роста объемов земляных работ вопрос обращения с грунтами, попадающими в категорию отходов, приобретает особую актуальность. Значительная часть грунтов, извлекаемых при строительстве, реконструкции или сносе объектов, разработке котлованов, прокладке коммуникаций или планировке территорий часто классифицируется как отходы производства и потребления, что требует их корректного учета, транспортировки, переработки или утилизации. При этом такие грунты могут представлять собой как незагрязненные массивы, пригодные для повторного использования, так и быть загрязнены, что в свою очередь требует специальных методов обработки для предотвращения негативного воздействия на окружающую среду (Григорьева и др., 2024).

В последние годы в России и за рубежом активно развиваются методы рециклинга, рекультивации и утилизации строительных грунтов, позволяющие снизить нагрузку на полигоны. Однако эффективное внедрение этих методов невозможно без строгого соблюдения нормативных требований, применения передовых технологий и учета международного опыта.

1.1. Объёмы и специфика образования песчано-глинистых грунтов, попадающих в категорию отходов, при осуществлении строительной деятельности

Строительная деятельность является одним из основных источников образования отходов в России, среди которых значительную долю занимают песчано-глинистые грунты. Извлекаемые в процессе земляных работ (устройство котлованов, траншей, тоннелей, фундаментов и других строительных конструкций) (Рисунок 1), рекультивации территорий (замена загрязнённых грунтов на очищенные при восстановлении промышленных и городских территорий), срезки плодородного слоя (подготовка строительных площадок, особенно в сельскохозяйственных и лесных и лесопарковых зонах), они попадают в категорию отходов, что часто создаёт серьёзные экологические и экономические проблемы.

⁴ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные в соавторстве, в которых отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

1. Григорьева, И. Ю., Садов С. С., Морозов А. В. Грунты в действующей системе обращения с отходами // Отходы и ресурсы. – 2024. – Т. 11, № 1. — С. 45–59. – doi: 10.15862/16NZOR124.
2. Садов С. С., Григорьева И. Ю. К вопросу о необходимости учета микробиологической составляющей при экотоксикологической оценке грунтов как отходов строительной деятельности // Инженерные изыскания. – 2023. – Т. 17, № 4. – С. 64-72. – doi: 10.25296/1997-8650-2023-17-4-64-72.



Рисунок 1. Грунт, образующийся в виде отхода при осуществлении строительной деятельности (фото — Садов Сергей)

Ежегодно на решение данной задачи Правительством РФ выделяются огромные средства. Например, только в 2021 году было выделено 126 958 миллионов рублей, составивших 10,2% от всех средств, выделенных на охрану окружающей среды (Григорьева, Садов и др., 2024; Охрана окружающей среды в России, 2022).

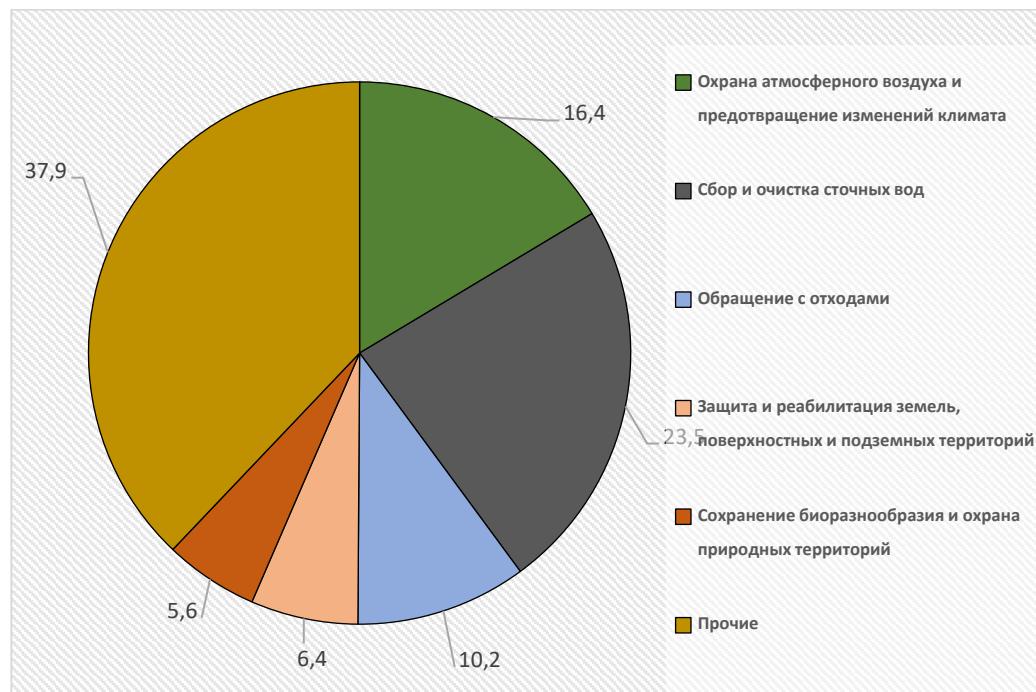


Рисунок 2. Структура расходов (в %) на охрану окружающей среды в России на 2021 г, (Охрана окружающей среды в России, 2022)

Но наиболее наглядно демонстрируют значимость данной проблемы не финансовые затраты, а объемы образующихся отходов, и в особенности тенденция к увеличению их общего количества. Анализ данных, представленных в Государственных докладах о состоянии окружающей среды, сделанный за последние 18 лет (за исключением 2023 года), позволяет сделать вывод о том, что объем образованных отходов каждые 5 лет последовательно увеличивался (рисунок 3). Не смотря на тот факт, что в последнем отрезке времени в период с 2020 по 2022 год приведены данные всего за 3 года, объем отходов уже превышает данные по интервалам с 2005-2009 и 2010-2014 гг., в то время как утилизируется и обезвреживается примерно половина от общего количества отходов, не зависимо от класса их опасности (Григорьева, Садов и др., 2024; Федеральная служба государственной статистики, URL.: <https://rosstat.gov.ru>).

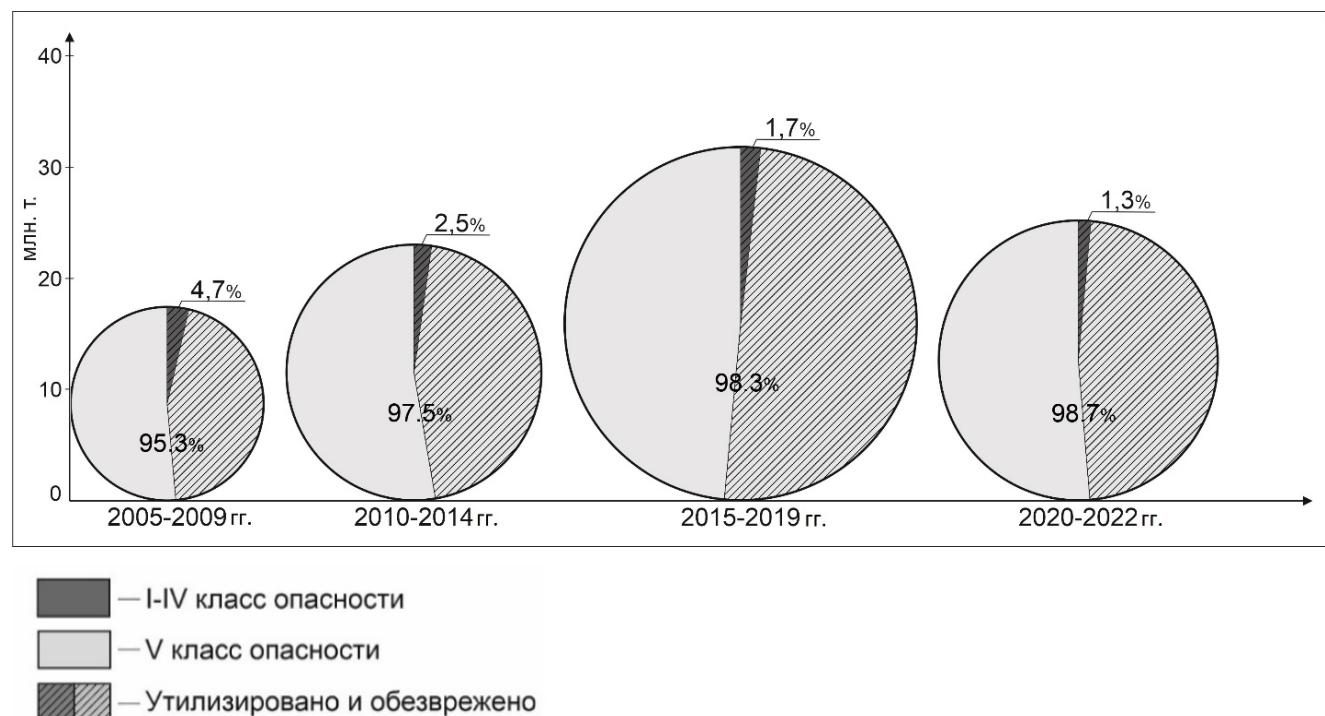


Рисунок 3. Образование, утилизация и обезвреживание отходов производства и потребления (миллионов тонн) (составлено на основе данных: Охрана окружающей среды в России, 2022; О состоянии..., 2021; О состоянии..., 2023)

Особое внимание стоит уделить тому, что доля отходов I-IV класса опасности постепенно уменьшалась с 4,7 до 1,3% в среднем, что означает наличие еще одной проблемы: размещение и техническая обработка малоопасных и неопасных отходов (IV и V класса опасности). Объемы таких отходов в нашей стране колоссальны. Например, в 2020 году отходы V класса опасности

составили 98,6% от общего количества образованных отходов производства и потребления, а в 2021 при том же процентном соотношении их количество увеличилось почти на 1,5 миллиона тысяч тонн (О состоянии..., 2021; Федеральная служба государственной статистики, URL: <https://rosstat.gov.ru>). Как результат – тратится большое количество средств и земельных ресурсов. При этом следует подчеркнуть, что более половины всего объема отходов IV и V классов опасности составляют именно грунты (Григорьева, Садов и др., 2024; Охрана окружающей среды в России, 2022; Федеральная служба государственной статистики, URL: <https://rosstat.gov.ru>).

При этом, специфика образования грунтов, как отходов, в том числе песчано-глинистых, определяется несколькими факторами.

Геологические особенности территории, которые будут определять состав и свойства грунтов, особенности аккумуляции и миграции в них загрязняющих веществ.

Типы строительной деятельности. Городское строительство: в мегаполисах грунты часто загрязнены строительным мусором, нефтепродуктами и тяжелыми металлами, что усложняет их утилизацию.

Промышленное строительство: на территориях бывших заводов и фабрик грунты могут содержать опасные химические вещества, такие как бензапирен, мышьяк и ртуть.

Транспортная инфраструктура: при строительстве дорог и мостов образуются большие объемы грунтов, которые часто используются для отсыпки, но требуют предварительной очистки.

Климатические условия. Строительство в условиях вечной мерзлоты, или с постоянным отрицательным уровнем температуры грунтовых массивов, с холодным климатом (например, Сибирь и Дальний Восток) осложняется наличием в структуре грунтов включений льда, что делает их утилизацию более сложной и дорогостоящей.

Таким образом, строительная деятельность в России является одним из основных источников образования отходов, среди которых значительную долю занимают песчано-глинистые грунты. Эти отходы образуются в процессе земляных работ, рекультивации территорий и срезки плодородного слоя, создавая серьезные экологические и экономические проблемы. За последние 18 лет объемы отходов устойчиво растут, при этом утилизируется лишь около половины их общего количества. Особое внимание вызывает увеличение доли малоопасных и неопасных отходов (IV и V классов), которые составляют более 98% от общего объема, причем грунты занимают в них значительную часть. Специфика образования грунтовых отходов зависит от геологических особенностей, типов строительной деятельности и климатических условий, что усложняет их утилизацию. Решение проблемы

требует разработки эффективных технологий рециклинга, совершенствования нормативной базы и методов оценки токсичности отхода.

1.2. Существующие подходы к оценке класса опасности отходов и их недостатки при обращении с песчано-глинистыми грунтами

Оценка класса опасности отходов, включая песчано-глинистые грунты, является важным этапом в системе управления отходами. Это позволяет минимизировать экологические риски, связанные с их утилизацией, и разработать эффективные меры по восстановлению загрязнённых территорий. Однако существующие методы, основанные на химико-аналитических подходах, имеют ряд ограничений, которые снижают их эффективность при работе с грунтами.

1.2.1. Химико-аналитические методы

Химико-аналитические методы направлены на определение концентраций загрязняющих веществ в грунтах. Основными группами загрязнителей, оцениваемые согласно СП 502.1325800.2021 "Инженерно-экологические изыскания для строительства. Общие правила производства работ", являются тяжёлые металлы, нефтепродукты и полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). Самые методы основаны на определении концентраций загрязняющих веществ с помощью методов спектроскопии, хроматографии и других.

Однако они имеют ряд существенных ограничений и недостатков. К примеру, неоднородность проб, обусловленная уникальным для каждой пробы составом грунтов, затрудняет репрезентативный отбор образцов. Во-вторых, сорбция тяжёлых металлов и органических веществ на глинистых минералах может снижать их доступность для некоторых методов анализа, что иногда приводит к занижению степени и класса опасности отхода (Бурдина и др., 2005; Григорьева и др., 2019). Кроме того, химический анализ не учитывает синергетическое действие нескольких поллютантов, что характерно для промышленных отходов, как, например, комбинированное воздействие свинца и кадмия, которое может быть более токсичным, чем воздействие каждого металла в отдельности (рисунок 4).

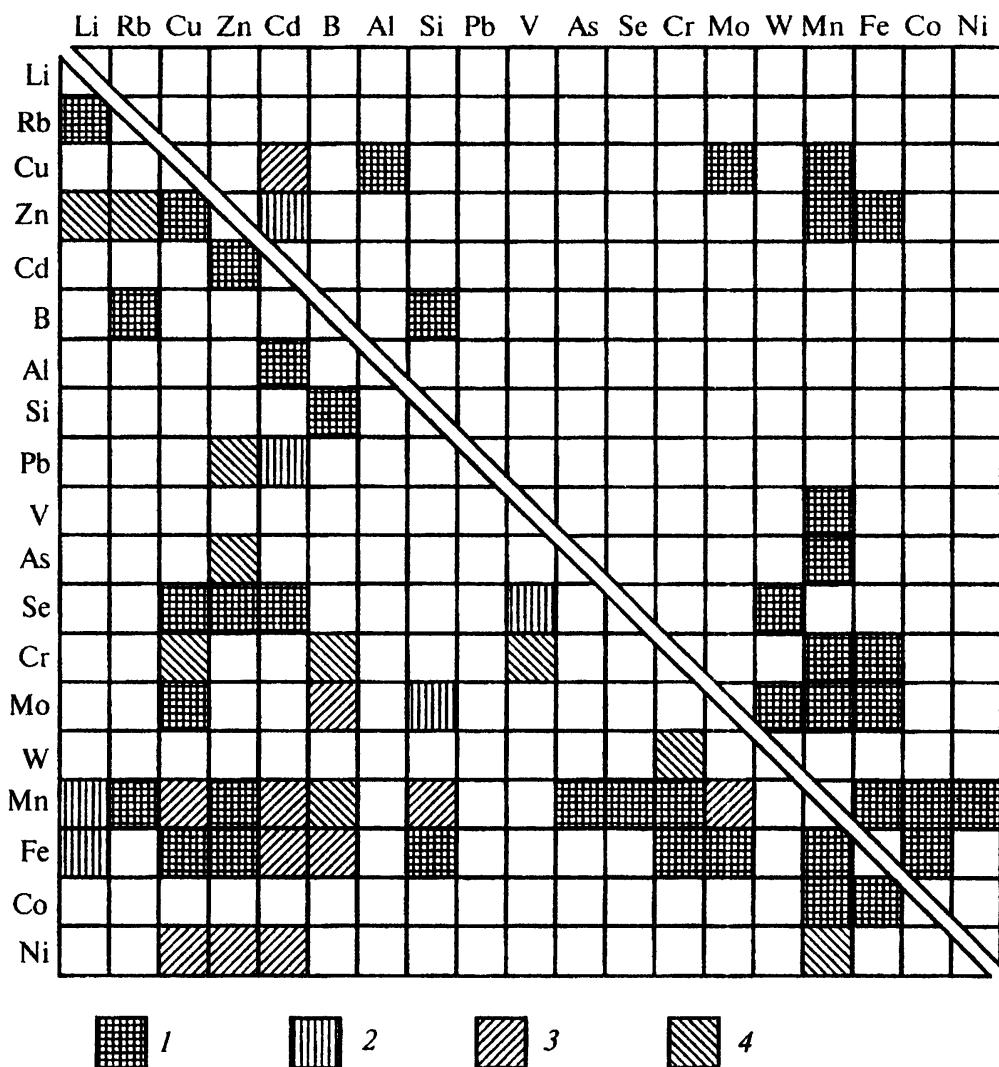


Рисунок 4. Взаимодействие микроэлементов: 1 — антагонизм, 2 — синергизм, 3 — антагонизм и/или синергизм, 4— возможный антагонизм (Кабата-Пендиас А., 1989)

Физико-химические методы, такие как определение pH, окислительно-восстановительного потенциала и электропроводности, оцениваются при определении категории загрязнения и класса опасности грунтов. Однако они обладают ограниченной информативностью, так как не отражают биологическую доступность загрязнителей. Например, нейтральный pH не исключает наличия токсичных металлов в форме стабильных комплексов. Кроме того, результаты измерений могутискажаться из-за переменной влажности песчано-глинистых грунтов.

Нормативно-расчетные методы, основанные на классификации отходов по предельно допустимым концентрациям (ПДК), также имеют свои недостатки. Они упрощают реальную ситуацию, так как ПДК установлены для отдельных веществ, но не для их соединений или их комбинаций. При этом, к настоящему моменту нормировано ПДК и ОДК менее 0,01% от общего количества известных соединений и химических веществ (Григорьева, 2019), что так же

свидетельствует о крайней непроработанности химико-аналитических методов по отношению к реальным условиям. Кроме того, эти методы не учитывают биоаккумуляцию поллютантов, которые могут долго удерживаться глинистой фракцией и постепенно высвобождаться (Алексеева, 2009; Донияров, 2020), что невозможно учесть на основе расчетных моделей.

Для анализа содержания тяжёлых металлов, таких как свинец (Pb), кадмий (Cd), цинк (Zn) и медь (Cu), используются методы атомно-абсорбционной спектрометрии (AAC), рентгенофлуоресцентного анализа (РФА) и индуктивно-связанной плазменной масс-спектрометрии (ИСП-МС).

Нефтепродукты анализируются с помощью инфракрасной спектрометрии (ИК-спектрометрии), газовой хроматографии (ГХ) и флуориметрии. Для определения полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), таких как бензапирен, применяются методы газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Кроме того, методы, такие как ИСП-МС и ГХ-МС, требуют дорогостоящего оборудования и квалифицированного персонала, что делает их недоступными для многих региональных лабораторий. Также химико-аналитические методы недостаточно чувствительны к органическим загрязнителям, таким как нефтепродукты и ПАУ, которые могут быть неравномерно распределены в грунтах. Методы ИК-спектрометрии и флуориметрии не всегда позволяют идентифицировать отдельные соединения. Наконец, эти методы не учитывают влияние загрязнителей на почвенные микроорганизмы и ферментативную активность грунтов.

Таким образом, химико-аналитические методы, такие как атомно-абсорбционная спектрометрия и газовая хроматография, позволяют точно определять концентрации загрязняющих веществ в грунтах, включая тяжелые металлы, нефтепродукты и ПАУ. Однако они имеют ограничения: не учитывают синергетическое действие загрязнителей, требуют дорогостоящего оборудования и не отражают биологическую доступность токсикантов. Физико-химические и нормативно-расчетные методы также недостаточны для комплексной оценки, так как не учитывают биоаккумуляцию и влияние на грунтовую биоту.

Для повышения точности оценки класса опасности отходов химические методы необходимо дополнять биологическими, такими как биотестирование. Совершенствование нормативной базы и внедрение современных технологий позволяют минимизировать экологические риски и обеспечить экологически грамотное обращение с отходами.

1.2.2. Биологические методы: биотестирование с применением культур гидробионтов и фитотестирование

Биологические методы оценки класса опасности отходов, такие как биотестирование с использованием гидробионтов и фитотестирование, играют ключевую роль в экотоксикологической диагностике, особенно при работе с песчано-глинистыми грунтами. Эти методы позволяют получить интегральную оценку токсичности, учитывая не только концентрацию загрязнителей, но и их биодоступность, а также комбинированное воздействие на живые организмы. Однако каждый из этих методов имеет свои особенности, преимущества и ограничения, которые необходимо учитывать при выборе подхода для решения конкретных задач.

Наиболее распространенным методом экотоксикологических исследований является метод биотестирования, который в настоящее время становится все более востребованным в сфере определения уровня экологической опасности различных сред. Данная методика стала столь широко применяться только в последнее время, однако история использования биологических видов для оценки экологической опасности и токсичности сред берет свое начало еще в средние века, когда шахтеры использовали изменение поведения канареек для индикации появления токсичного газа в горных выработках (Воробейчик, 1994; Тимофеева, 2011).

Биотестирование — 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 (Мирзоян, 2001; Терехова, 2007; Шеуджен, 2003). Существует два вида биотестирования: морфофизиологический и хемотаксический. Хемотаксический метод более точный, так как в нем используется специальный прибор, а морфофизиологический позволяет более точно описать, что происходит с тест-объектами, например, в загрязненной воде (Багдасарян, 2005; Биологический контроль..., 2008; Бурдина, 2005; Жмур, 1997; Терехова, 2007).

Наиболее распространенным и широко применяемым в современной практике инженерно-экологических изысканий методом является биотестирование с использованием гидробионтов. Оно основано на оценке воздействия водных вытяжек из грунта на водные организмы, такие как дафнии (рисунок 5, а) (*Daphnia magna*), водоросли (рисунок 5, б, в) (*Chlorella vulgaris* или *Scenedesmus quadricauda*) и инфузории (рисунок 5, г) (*Paramecium caudatum*).

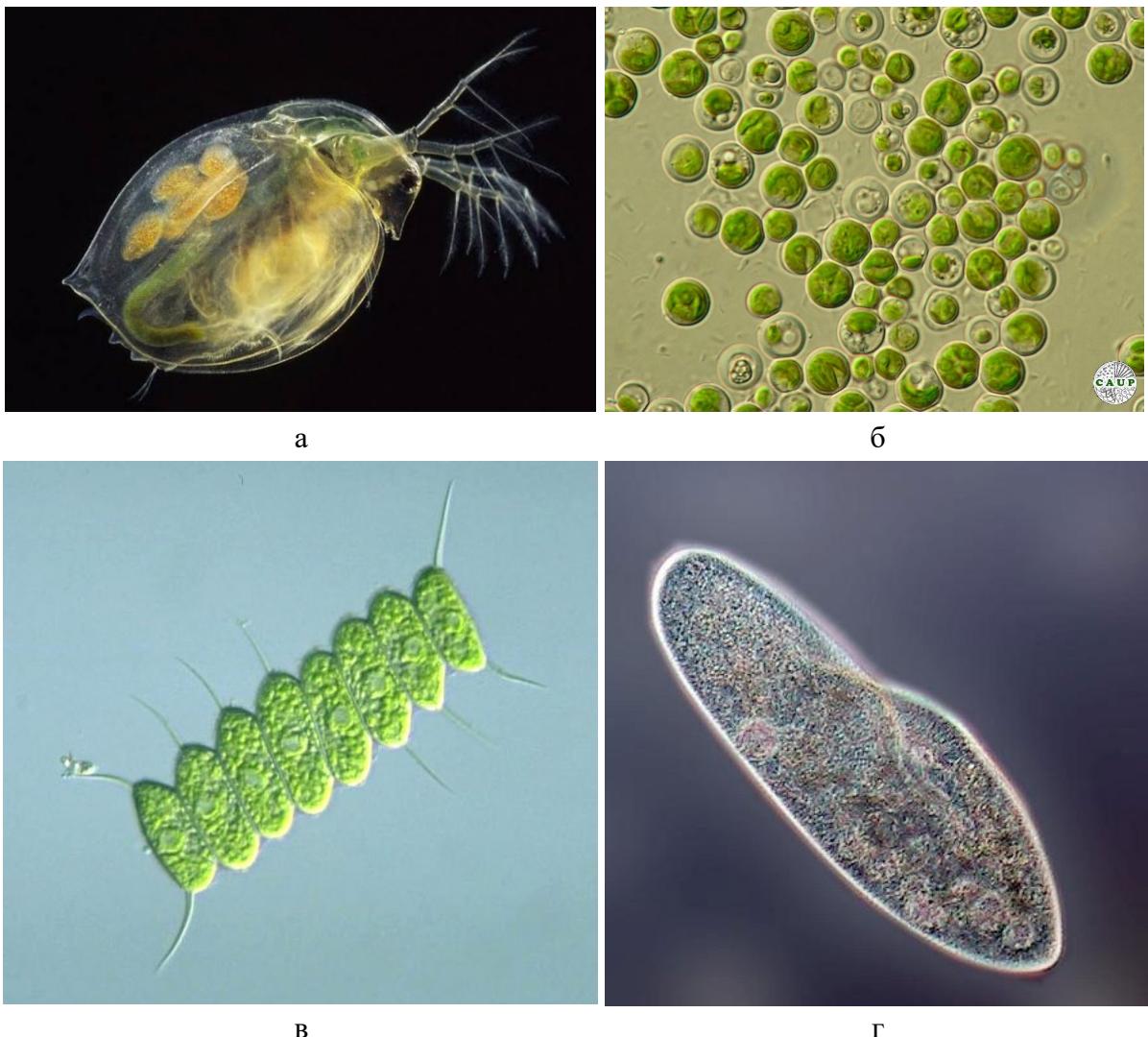


Рисунок 5. Водные организмы, применяемые при биотестировании: а - *Daphnia magna* (Nord Universitet, URL: <https://site.nord.no>), б - *Chlorella vulgaris* (Culture Collection of Algae of Charles University, URL: <https://botany.natur.cuni.cz>), в - *Scenedesmus quadricauda* (Protist Information Server, URL: <http://protist.i.hosei.ac.jp>), 7 - *Paramecium caudatum* (ENvironmental inFormation, URL: <https://www.xn--krinfo-wxa.hu/en>)

Процедура подразумевает приготовление и использование водной вытяжки из грунта, таким образом исключая непосредственный контакт тест-организмов с самими образцами. В ходе эксперимента регистрируют такие параметры, как смертность, изменение подвижности (для дафний) и подавление фотосинтеза (для водорослей). Преимущество этого метода заключается в его способности учитывать все биодоступные формы загрязнителей. Например, дафнии демонстрируют высокую чувствительность, реагируя на концентрации цинка от 0,1 мг/л, что значительно ниже ПДК для воды (1 мг/л). Однако при этом было обнаружено, что токсичность

цинка зависит от различных факторов анализируемой среды, включая жесткость воды и наличие органических веществ. Paulaskis J. D. и Winner R. W. (1998) продемонстрировали, что в водах с различной жесткостью (50–200 мг/л в пересчете на CaCO_3) и концентрацией гуминовой кислоты (0,00–1,50 мг/л) увеличение этих показателей приводит к снижению острой токсичности цинка для *D. magna*, что указывает на взаимодействие между оцениваемыми факторами (Paulaskis et al., 1988). Это подтверждается также исследованиями Heijerick D. G. et al., которые подчеркнули, что присутствие ионов кальция и магния антагонистически влияет на токсичность металлов для *D. magna*, что они объяснили конкурентным ингибированием на связывающих участках чувствительных тканей раков (Heijerick, De Schamphelaere et al., 2002; Heijerick et al., 2002; Heijerick et al., 2003; Heijerick et al., 2005). Одновременно с этим, *D. magna* демонстрирует уникальные физиологические адаптации в ответ на токсичность цинка. Tan Q-G., и Wang W.-X., отметили, что *D. magna* развила специфический механизм толерантности как к кадмию, так и к цинку, что указывает на потенциальную специализированную стратегию выживания среди кладоцер (Tan, Wang, 2012). Работы ряда исследователей (Bodar et al., 1988; Bossuyt, Janssen 2003; Chen et al., 2000; Muyssen et al., 2006; Yu, Wang, 2002), показали, что *D. magna* способна активно регулировать накопление цинка, поддерживая гомеостаз даже при различных концентрациях этого элемента. Баланс между накоплением цинка и процессами детоксикации подчеркивает врожденные адаптации организма данных раков для смягчения воздействия экологических стрессоров (Guan, Wang 2004; Glover, 2004; Lam, Wang, 2005; Yu, Wang, 2002). Все эти исследования доказывают, что метод имеет и свои ограничения. Помимо уже перечисленных недостатков, реакция гидробионтов характеризует влияние загрязнителей на состояние водной среды, но не учитывает воздействие на почвенную и грунтовую биоту. Также сильное влияние на результаты биотестирования образцов песчано-глинистых грунтов может оказывать высокая сорбционная емкость глинистой фракции, которая будет снижать доступность элементов для тест-организмов из-за процессов сорбции.

В связи с этим, для оценки экологической опасности состава грунта применяется фитотестирование с использованием тест-растений, таких как редис (*Raphanus sativus*), овес (*Avena sativa*), кресс-салат (*Lepidium sativum*), горчица белая (*Sinapis alba*), сорго сахарное (*Sorghum saccharatum*) и многие другие. Метод подразумевает проращивание семян в тестируемом грунте и контрольном субстрате (чистый кварцевый песок с добавлением каолинита, который носит название «референтный грунт») при стандартных условиях, таких как поддержание постоянной влажности и диапазон температур +20–25°C. Одним из ключевых преимуществ фитотестирования является прямое взаимодействие растений с грунтом: корни контактируют с поверхностью грунта, поглощая как свободные, так и слабосвязанные ионы

загрязняющих веществ, например таких как тяжелые металлы. Это позволяет оценить хроническую токсичность и эффекты биоаккумуляции. Однако метод имеет и свои недостатки. Например, высокая плотность глины может механически затруднять рост корней, что можно ошибочно принять за химическую токсичность. Кроме того, чувствительность растений к загрязнителям варьирует: горчица белая, например, чувствительна к нефтепродуктам, но более устойчива к соли, а сорго сахарное в свою очередь наоборот, что требует тщательного подбора видов для конкретных задач (Григорьева, Садов, 2024; Григорьева, 2022; Григорьева, Сарженко, 2018; Лисовицкая, 2010).

В практике экотоксикологических исследований наибольшее распространение получил эллюатный способ фитотестирования, который предполагает использование водных вытяжек из грунта. С одной стороны, этот метод позволяет исключить влияние физических свойств грунта, таких как плотность и структура, на результаты теста. С другой стороны, у этого метода есть существенные ограничения. Во-первых, он не учитывает прямой контакт растений с грунтом, что может привести к недооценке токсичности, так как часть ионов и их соединений остается связанной с твердыми частицами грунта и не переходит в водную фазу. Во-вторых, при фильтрации вытяжки часть элементов и соединений может задерживаться на фильтровальной бумаге или поверхности частиц из-за адсорбции, что также снижает точность оценки. Исследования, сравнивающие эллюатный и аппликатный (прямой контакт с грунтом) методы, показывают, что эллюатный способ часто дает заниженные результаты при оценке уровня токсичности оцениваемой среды (Григорьева, Садов, 2024; Григорьева, Федосеева и др., 2019; Григорьева, Садов, 2019; Садов, Григорьева, 2023; Садов, Григорьева, 2019).

В странах ЕС и США принятые различные подходы к определению экотоксичности опасных грунтовых отходов, однако все эти подходы сводятся к приготовлению водных вытяжек из грунтов, с целью извлечения подвижных компонентов (Тимофеева, 2011). Далее полученные данные сравнивают с нормативами (в США), или напрямую исследуют влияние токсических свойств данного раствора на биологических объектах – рыбах, беспозвоночных, водорослях и высших растениях (в ЕС) (таблица 1). Возможность использования различных видов в качестве биотестов, а также степень их эффективности изучались в работах многих авторов, в том числе зарубежных, среди них (Aoyama, 2000; Blaise, 2000; MicroBioTests URL: <http://www.microbiotests.be>; Persoone, 2005; Ruck, 2000; Sumorok, 2005; Vaal, 2000; Wolska, 2005)

Тест организмы при биодиагностике (Лисовицкая, 2010)

Объект	Показатель
Бактерия <i>Escherichia coli</i> M-17 (тестсистема «ЭКОЛЮМ»)	Острая токсичность
Рачки Дафния <i>Daphnia magna</i> Straus	Острая и хроническая токсичность
Рачки Цериодафния <i>Ceriodaphnia affinis</i> Lilljeborg	Острая и хроническая токсичность
Инфузория <i>Paramecium caudatum</i>	Острая токсичность
Водоросль <i>Chlorella vulgaris</i> Beijer	Острая токсичность
Водоросль <i>Scenedesmus quadricauda</i>	Острая токсичность
Аквариумная рыбка <i>Poecilia reticulata</i> Peters	Острая токсичность
Ногохвостка <i>Onychiurus stachianus</i>	Процент выживаемости, значения LC50 и LC100, способность к размножению
Дождевые черви <i>Lumbricus terrestris</i>	Тест-объект при токсикологических исследованиях (гибель и др.)

На сегодняшний день в Российской Федерации разработан и применяется ряд аттестованных методикэтотоксикологического контроля состояния природных сред. Они содержатся в реестре Федерального центра анализа и оценки техногенного воздействия (Федеральный центр...URL: <http://fcao.ru/>). Среди внесенных в данный реестр методов, есть те, цель которых определение токсичности почв (Дмитриев, 2001; Куриленко, 2004; Маячкина, 2009; Практикум по агрохимии, 2001; Романова, 2009) и грунтов (Терехова, 2011; Терехова, 2022; Фомин, 2001). Ниже приведен перечень данных методов.

«Методика определения токсичности проб почв, донных отложений и осадков сточных вод экспресс-методом с применением прибора серии «Биотестер», разработчиком которой является кампания ООО "Спектр-М". Согласно нормативному документу «ФР.1.39.2015.19243» (2015), этот метод определения токсичности основан на способности тест-объекта реагировать на присутствие в водных вытяжках из почвы, донных отложений и осадков сточных вод веществ, представляющих опасность для их жизнедеятельности, и направленно перемещаться по градиенту концентраций (в направлении изменения концентрации) этих веществ (хемотоксическая реакция), избегая их вредного воздействия. В качестве тест-объекта используется инфузория - *Paramecium caudatum*.

«Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления»,

разработчиком которой является ФГАОУ ВПО "Сибирский федеральный университет". Согласно «ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04» (2014), методика основана на регистрации различий в величине оптической плотности тест-культуры водоросли хлорелла, выращенной на среде, не содержащей токсических веществ (контроль) и в тестируемых пробах вод и водных вытяжек (опыт), в которых эти вещества могут присутствовать. Стоит отметить, что оптическая плотность тест-культуры определяется после 22 часов роста при помощи фотоэлектроколориметра.

«Методика измерений количества *Daphnia magna Straus* для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления методом прямого счета», разработанная ФГАОУ ВПО "Сибирский федеральный университет". Согласно «ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.12-06», методика основана на определении смертности дафний (*Daphnia magna Straus*) при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемой пробе, по сравнению с контрольной культурой в среде, не содержащей токсических веществ. Количество живых и мертвых дафний определяется методом прямого счета.

«Методика выполнения измерений индекса токсичности почв, почво-грунтов, вод и отходов по изменению подвижности половых клеток млекопитающих *in vitro*», разработанная АНО ЭАЦ "ЭКОТЕРРА". Нормативные документы – «ПНД Ф Т 14.1:2:4.15-09», «Т 16.1:2:2.3:3.13-09». Методика основана на определении токсичности по результатам реакции супензионной культуры сперматозоидов быка *in vitro*.

«Методика измерений относительного показателя замедленной флуоресценции культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris Beijer*) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления», разработанная ФГАОУ ВПО "Сибирский федеральный университет". Согласно «ПНД Ф Т 14.1:2:4.16-09», «Т 16.1:2.3:3.14-09», методика основана на регистрации различий в величине ОПЗФ (относительный показатель замедленной флуоресценции) тест-культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris Beijer*), экспонируемой в течение 1 часа в среде, не содержащей токсических веществ (контроль) и тестируемых пробах поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек из почвы, осадков сточных вод и отходов (опыт), в которых эти вещества могут присутствовать.

«Методика определения токсичности питьевых, грунтовых, поверхностных и сточных вод, растворов химических веществ по измерению показателей всхожести, средней длины и среднего сухого веса проростков семян кress-салата (*Lepidium sativum*)», разработанная ГАНУ "Институт прикладных исследований Республики Башкортостан". В основе метода лежит определение

острого и хронического токсического воздействия растворов и водных вытяжек на всхожесть семян кress-салата за определенный период экспозиции (ПНД Ф Т 14.1:2:4.19 2013).

«Методика выполнения измерений всхожести семян и длины корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно-загрязненных почв», «ФР.1.39.2006.02264 М-П-2006» (2009), разработанная Учреждением Российской академии наук Санкт-Петербургским Научно-исследовательским центром экологической безопасности РАН. В основе метода лежит измерение всхожести семян и угнетения корней высших растений, на основании которых при помощи разработанной шкалы фитотоксичности определяется токсичность техногенно-загрязненных почв.

Таким образом, биологические методы оценки токсичности, включая биотестирование на гидробионтах и фитотестирование, являются важным инструментом для экологического контроля и мониторинга. Они позволяют учитывать биодоступность загрязнителей и их комбинированное воздействие, что особенно важно при работе с песчано-глинистыми грунтами. Эллюатный способ фитотестирования, хотя и удобен для предварительной оценки, имеет существенные ограничения, связанные с недоучетом прямого контакта растений с грунтом и потерей части загрязнителей при фильтрации. Поэтому для получения более точных и репрезентативных результатов рекомендуется использовать аппликатный метод, который обеспечивает полный учет всех факторов при оценке токсичности среды. Дальнейшие исследования в этой области, включая сравнительный анализ эллюатного и аппликатного методов, помогут оптимизировать протоколы и повысить точность оценки экологических рисков при обращении с песчано-глинистыми грунтами, образующимися при осуществлении строительной деятельности.

1.2.3. Статистические методы обработки данных при оценке класса опасности отхода

Для точной оценки уровня загрязнения и класса опасности грунтов необходимо применение современных статистических методов обработки данных. Эти методы позволяют выявить закономерности, оценить взаимосвязи между различными параметрами и сделать достоверные выводы о степени экологической опасности состава и свойств грунтов. Рассмотрим основные этапы статистической обработки данных, современные методы их анализа, а также программные решения, используемые для работы с массивами данных при оценке класса опасности отходов. Особое внимание следует уделить методам биотестирования, которые являются ключевыми индикаторами токсичности среды.

Процесс статистической обработки данных начинается со сбора первичной информации. В нее входят химический анализ на содержание тяжелых металлов, нефтепродуктов и других

загрязнителей, а также проведение биотестирования с использованием водорослей и гидробионтов, или фитотестирования с применением высших растений, что подразумевает обязательное измерение морфометрических параметров растений. После сбора данных проводится их предварительная обработка. Далее данные группируются по различным параметрам, таким как тип грунта, уровень загрязнения или условия эксперимента. Это позволяет провести сравнительный анализ и выявить те или иные закономерности.

Анализ данных в экотоксикологических исследованиях включает использование как параметрических, так и непараметрических методов, выбор которых зависит от характера распределения данных и поставленных задач. Описательная статистика играет ключевую роль на начальном этапе анализа, предостав员я общую характеристику данных. Она позволяет рассчитать такие показатели, как средние значения, стандартное отклонение, дисперсию и медиану, что помогает оценить общую тенденцию и разброс данных. Например, при фитотестировании состояния грунтов средняя длина корней растений в контрольной группе (выращенных в чистом субстрате) может быть значительно выше, чем в экспериментальной группе (выращенных в загрязненном грунте). Если разница между средними значениями статистически значима (например, подтверждена с помощью t -критерия Стьюдента или U-критерия Манна-Уитни) (Бородина, 2023), это может свидетельствовать о токсичности исследуемого субстрата (грунта). Таким образом, описательная статистика не только предоставляет базовую информацию о данных, но и служит основой для дальнейшего анализа, помогая выявить потенциальные закономерности и сделать предварительные выводы о воздействии исследуемых субстратов на тест-организмы.

Корреляционный анализ помогает выявить взаимосвязи между параметрами. Например, высокая корреляция может быть обнаружена между содержанием тяжелых металлов (таких как свинец или кадмий) и изменением морфометрических показателей растений (Бабкина и др., 2018; Сиромля, 2021; Щербаков, 2013). В частности, увеличение концентрации свинца в грунте часто сопровождается уменьшением длины корней и снижением общей массы растений, что указывает на его токсическое воздействие. Аналогично, присутствие нефтепродуктов может вызывать деформацию листьев и угнетение роста стеблей.

Многомерные методы анализа, такие как метод главных компонент (PCA) и кластеризация, позволяют сгруппировать образцы по их характеристикам и выделить основные факторы, влияющие на токсичность. Например, кластеризация позволяет доказать, что глинистые грунты имеют более высокую способность удерживать загрязнители, чем песчаные.

Современные исследования, связанные с оценкой класса опасности отходов, включая песчано-глинистые грунты, требуют использования специализированного программного

обеспечения для обработки, анализа и визуализации данных. Это особенно важно при работе с большими объемами информации, полученной из химических анализов, биотестирования (например, измерение длин корней растений) и оценки физических и физико-химических показателей свойств грунтов.

Среди наиболее распространенных инструментов можно выделить следующие:

IBM SPSS Statistics (Statistical Package for the Social Sciences) — это мощный инструмент для профессиональной обработки данных. Он широко используется в экологических исследованиях благодаря своей гибкости и широкому набору функций: проведение параметрических и непараметрических тестов (t-критерий Стьюдента, ANOVA, критерий Манна-Уитни), корреляционный анализ, кластерный анализ и метод главных компонент (PCA). В качестве примера применения, в исследовании токсичности песчано-глинистых грунтов можно использовать SPSS для сравнения средних длин корней растений в разных типах грунтов с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) (IBM. URL: <https://www.ibm.com>).

R и **Python** — это открытые программные языки, которые активно используются для статистического анализа, машинного обучения и визуализации данных. Они особенно полезны для работы с большими объемами данных и сложными моделями. R имеет множество пакетов для статистического анализа. Это позволяет создавать модели машинного обучения для прогнозирования класса опасности грунта на основе его химических и биологических характеристик.

WinRHIZO — это программа, специально разработанная для анализа корневых систем растений. Она работает с отсканированными изображениями корней и позволяет автоматически измерять длину, площадь, объем и диаметр корней. Среди преимуществ данного метода: высокая точность измерений и удобный интерфейс. Недостатком является высокая стоимость лицензии (LAB Instruments. URL: <https://labinstruments.ru>).

ImageJ — это бесплатное программное обеспечение для обработки изображений, которое также может использоваться для анализа корневых систем. Его основные функции: измерение длин корней, площадей и объемов (ImageJ. URL: <https://imagej.net>).

MATLAB — это программное обеспечение для численных вычислений и моделирования, которое часто используется для создания математических моделей и прогнозирования воздействия загрязнителей (MathWorks. URL: <https://www.mathworks.com>).

SIMCA — это программа для многомерного анализа данных, которая позволяет выполнять метод главных компонент (PCA) и кластерный анализ (Sartorius. URL: <https://www.sartorius.com>).

Таким образом, для оценки класса опасности грунтов необходимы современные статистические методы и программные решения. Эти инструменты позволяют выявить

закономерности, оценить взаимосвязи между параметрами и сделать достоверные выводы о токсичности анализируемой среды. Современные программы, такие как SPSS, R, Python, WinRHIZO и ImageJ, обеспечивают высокую точность анализа и автоматизацию процессов, что особенно важно при работе с большими объемами данных. Использование этих методов позволяет повысить надежность экологических исследований и принять обоснованные решения.

1.3. Требования нормативных и правовых документов по вопросам обращения с отходами строительства в Российской Федерации и за рубежом

Рассмотренные здесь аспекты были проанализированы и опубликованы в статье авторского коллектива (Григорьева, Садов, 2024).

Неправильное обращение с отходами может привести к вторичному загрязнению верхних слоев грунтовых массивов, вод и приповерхностной атмосферы, а также к увеличению нагрузки на полигоны и несанкционированные свалки. В связи с этим, нормативно-правовые документы играют важнейшую роль в регулировании процессов сбора, транспортировки, переработки и утилизации грунтов – отходов строительной деятельности. Они устанавливают требования к классификации отходов, их обезвреживанию, а также к методам рекультивации загрязненных территорий. В настоящее время существует целый комплекс законодательных актов, санитарных правил и технических регламентов, направленных на минимизацию негативного воздействия строительных отходов на окружающую среду (Федеральный закон №190, 2004; СП 47.13330.2016, 2021; СП 502.1325800.2021, 2021). Однако для повышения эффективности регулирования важно учитывать международный опыт, где уже разработаны и успешно применяются передовые подходы к управлению отходами.

На территории Российской Федерации обращение с отходами строительства регулируется рядом федеральных законов, кодексов, санитарных правил и технических регламентов. Основным регулирующим актом в области охраны окружающей среды является Федеральный закон № 7-ФЗ "Об охране окружающей среды" (2021). Этот закон определяет общие принципы охраны природы. Он обязывает проводить экологическую экспертизу при размещении объектов, связанных с обращением с отходами, и предусматривает ответственность за нарушение экологических норм.

Другим ключевым документом является Федеральный закон № 89-ФЗ "Об отходах производства и потребления" (2019). Он регулирует порядок обращения с отходами, включая их учет, сбор, транспортировку, обработку, утилизацию и захоронение. Важным аспектом закона является требование лицензирования деятельности по обращению с отходами I–IV классов

опасности, что обеспечивает контроль над процессами, связанными с потенциально опасными материалами.

Важную роль играют СанПиН 2.1.7.1322-03 "Гигиенические требования к размещению и обезвреживанию отходов производства и потребления", которые устанавливают санитарно-эпидемиологические требования к обращению с отходами, включая их хранение, транспортировку и утилизацию. Так же документ регламентирует создание санитарно-защитных зон вокруг объектов захоронения отходов, чтобы минимизировать риск загрязнения окружающей среды и воздействия на население.

Кроме того, в РФ действуют ГОСТы, такие как ГОСТ 30772-2001 "Ресурсосбережение. Обращение с отходами. Термины и определения" (2002), которые стандартизируют терминологию и методы работы с отходами. А также ГОСТ Р 56207-2014 "Оборудование для переработки отходов. Общие технические требования" (2015), который устанавливает общие технические требования к оборудованию, используемому для переработки отходов.

СанПиН 2.1.7.1287-03. «Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы» определяет методы анализа загрязняющих веществ (2004). Этот стандарт используется для классификации химических веществ, которые могут представлять угрозу, и служит основой для расчета индекса загрязнения (Z_c).

Для определения ПДК и ОДК используются ГН 2.1.7.2041-06 "Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве" (2006) и ГН 2.1.7.2511-09 "Ориентировочные допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве" (2009). Эти документы устанавливают максимально допустимые уровни содержания загрязняющих веществ в почве, исходя из их токсичности и потенциального воздействия на здоровье человека и окружающую среду.

Классификация отходов по классам опасности регулируется Приказом Росприроднадзора № 536⁵ от 15.06.2019. Этот документ делит отходы на пять классов опасности: I (чрезвычайно опасные); II (высокоопасные); III (умеренно опасные); IV (малоопасные); V (практически неопасные).

Методика расчета класса опасности основана на количественной оценке токсичности отходов, включая показатели LD50 (средняя летальная доза) и LC50 (средняя летальная концентрация), а также результаты биотестирования.

⁵ Министерство природных ресурсов и экологии Российской Федерации. Приказ от 4 декабря 2014 г. № 536 «Об утверждении критериев отнесения отходов к I - V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду»

Правила обращения с отходами I–V классов опасности устанавливаются Федеральным законом от 24.06.1998 №89-ФЗ «Об отходах производства и потребления». Этот документ регулирует все этапы обращения с отходами, включая их транспортировку, хранение, утилизацию и рекультивацию.

- *Транспортировка:* Требования к транспортировке включают использование специализированного транспорта, маркировку контейнеров и соблюдение санитарных норм. Деятельность по перевозке отходов I–IV классов опасности подлежит обязательному лицензированию.

- *Хранение и утилизация:* Отходы должны размещаться на лицензированных полигонах, соответствующих санитарным и экологическим требованиям. Переработка и повторное использование материалов являются приоритетными направлениями.

- *Рекультивация земель:* Рекультивация нарушенных территорий предусматривает восстановление почвенного покрова и использование строительных отходов в качестве вторичных материалов, например, в дорожном строительстве.

Региональные особенности регулирования учитываются в законодательстве субъектов РФ. Например, в Москве действует Закон города Москвы № 68 "Об отходах производства и потребления в городе Москве", который устанавливает дополнительные требования к обращению с отходами в столице (с изм. 2022).

Классификация отходов строительства в РФ осуществляется также и на основе Федерального классификационного каталога отходов (ФККО) (рисунок 6), который присваивает каждому виду отходов уникальный код и определяет его класс опасности. Например, отходы бетона и железобетона относятся к V классу опасности (практически неопасные), а отходы асбеста — к I классу (чрезвычайно опасные) (Росприроднадзор. URL: <https://rpn.gov.ru>).

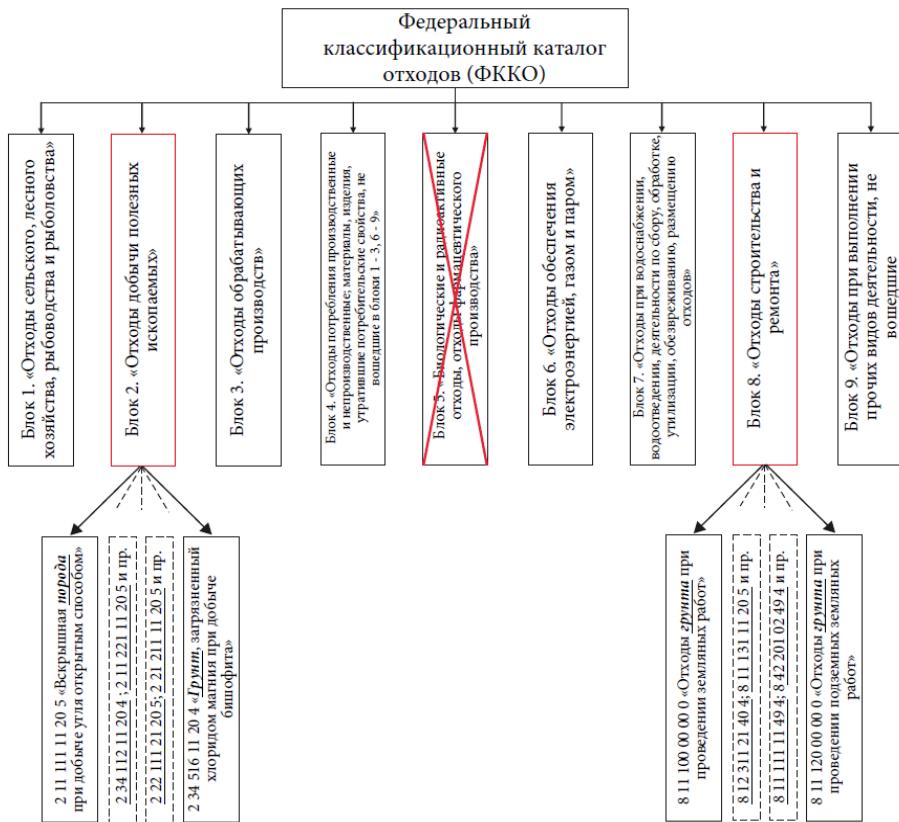


Рисунок 6. Положение грунтов в Федеральном Классификационном Каталоге Отходов (ФККО) (составлено на основе данных ФККО)

Лицензирование деятельности по обращению с отходами строительства является обязательным в соответствии с Федеральным законом № 99-ФЗ "О лицензировании отдельных видов деятельности". Лицензия требуется для сбора, транспортировки, обработки, утилизации, обезвреживания и размещения отходов.

Требования к транспортировке отходов включают использование специального транспорта, оборудованного для предотвращения утечек и загрязнения окружающей среды. Хранение отходов должно осуществляться на специально оборудованных площадках, защищенных от воздействия атмосферных осадков и ветра.

Отчетность и мониторинг являются важной частью системы регулирования. Юридические лица обязаны предоставлять отчеты о количестве образованных, переработанных и утилизированных отходов в соответствии с Приказом Минприроды России № 721 "Об утверждении порядка представления отчетности об образовании, утилизации, обезвреживании и размещении отходов".

В отношении международной практики, Европейский Союз активно внедряет передовые подходы к управлению строительными отходами. Директива 2008/98/EC "Об отходах"

устанавливает общий подход управления отходами, где приоритет отдается предотвращению образования отходов, их повторному использованию и переработке. Принципы "зеленой экономии" и "нулевых отходов" активно внедряются в практику, что способствует снижению объемов захоронения отходов.

В США управление строительными отходами регулируется Законом о сохранении ресурсов (RCRA) и стандартами Агентства по охране окружающей среды (EPA) (United States Environmental Protection Agency. URL: <https://www.epa.gov>). Эти документы устанавливают требования к переработке и захоронению строительных отходов, а также стимулируют повторное использование материалов.

Китай активно развивает государственные программы по сокращению объема строительных отходов и внедрению технологий повторного использования (Expert. URL: <https://raexpert.ru>). Создаются специализированные заводы по переработке строительных материалов, что позволяет минимизировать негативное воздействие на окружающую среду.

Таким образом нормативно-правовые документы играют ключевую роль в регулировании обращения с отходами строительства, включая грунты, что позволяет минимизировать их негативное воздействие на окружающую среду. В Российской Федерации действует комплекс законодательных актов, таких как Федеральные законы № 7-ФЗ и № 89-ФЗ, СанПиН, ГОСТы и технические регламенты, которые устанавливают требования к классификации, транспортировке, хранению, утилизации и рекультивации отходов. Однако для повышения эффективности регулирования важно учитывать международный опыт, где успешно применяются передовые подходы, такие как программы повторного использования (Китай) и стимулирование переработки (США).

Совершенствование нормативной базы, внедрение современных технологий и учет лучших мировых практик позволяют снизить нагрузку на полигоны, предотвратить вторичное загрязнение и обеспечить эффективное обращение с отходами строительства, включая и грунты, образующиеся при возведении зданий и сооружений, планировке территории и т.д.

1.4. Экологические риски при неправильной утилизации грунтов

Действующие на сегодняшний день нормативные документы, регламентирующие порядок и правила оценки класса опасности, такие как ГОСТ 17.4.1.02-2017 «Охрана природы. Почвы. Классификация химических веществ для контроля загрязнения» (2018) и СанПиН 2.1.7.1287-03 «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» (2004), предусматривают его расчет по данным химико-аналитических исследований, и не позволяют в полной мере учесть микробиологическую составляющую, определяющую биологическую активность грунтов. Это

часто приводит к неправильной оценке экологической опасности. Например, исследование Wang et al. (2007) на территориях строительных полигонов в Китае выявило, что грунты с «допустимым» уровнем содержания цинка (по ГОСТ 17.4.1.02) подавляли активность основных групп ферментов, хотя данный показатель (ферментативная активность) не учитывается в текущей классификации. При этом, ферментативная активность микроорганизмов — ключевой индикатор способности среды к самоочищению. Её подавление может свидетельствовать о наличии стойких загрязнителей (тяжёлые металлы, нефтепродукты, пестициды), которые не были выявлены с помощью традиционных химических анализов. Как результат, снижение активности по ряду ферментов, что указывает на угнетение микробного сообщества, и существенно замедляет разложение органических загрязнителей (Григорьева, Садов, 2023).

В качестве другого примера отсутствия в стандартах, в том числе и международных (ISO 19204:2017, 2017), четких критериев оценки токсичности для микробиоты, можно привести исследование Epelde et al. (2009). В нем показано, что строительные грунты с остатками цемента, формально соответствующие IV классу опасности, снижали численность азотфикссирующих бактерий на 80%, что привело к деградации растительного покрова на рекультивированных территориях в Испании и замедлило восстановление экосистемы на 5–7 лет (Григорьева, Садов, 2023).

При этом, отсутствие единых нормативов для оценки микробиологической составляющей затрудняет сопоставление и анализ подобных исследований. Так, например, в ЕС для биотестирования грунтов чаще используют люминесцентные бактерии *Vibrio fischeri* (ISO 11348-3:2007, 2018). В США применяют тесты с дождевыми червями *Eisenia fetida* (EPA 600/R-07/139, 2007). В России, согласно ГОСТ Р ИСО 22030-2009, рекомендованы фитотесты с высшими растениями, но они не учитывают влияние микробиоты (2010).

Однако наличие подобных недостатков в нормативной базе присуще не только международной практике, но и для отечественных нормативов. Так, например, анализ противоречий в нормативной базе по отношению к классификации нефтезагрязненных грунтов (Манько, 2017) показал, что грунт с высоким содержанием нефти может быть признан V классом с разрешением вплоть до применения для обратных засыпок, а грунт с низким содержанием нефти может быть признан IV классом.

Непроработанность нормативной базы является одной из ключевых причин экологических последствий, связанных с неправильной утилизацией грунтов, однако для их предотвращения необходимо также глубокое понимание потенциальных рисков, включая воздействие на почвенный покров, водные ресурсы и угнетение биоразнообразия.

Одним из наиболее значимых экологических рисков при некорректной утилизации грунтов является деградация почвенного покрова. Захоронение или несанкционированное складирование грунтов может вызывать загрязнение почвенных горизонтов различными поллютантами, что в свою очередь влечет деградацию почвы. В следствие этого происходит уменьшение плодородия почвенного слоя и изменяются ее физико-химические свойства (Артемьева, 1988; Гайнутдинов, 1982; Функционирование почв..., 2015). Как итог, возможно нарушение естественных водно-воздушных режимов территории, так как почвенный покров является одним из ключевых компонентов, участвующих в данных процессах.

При этом особую опасность представляют грунты, загрязненные промышленными отходами или нефтепродуктами. Такие вещества могут оставаться в почве десятки лет, продолжая оказывать негативное воздействие на экосистему (Геннадиев, 2007; Григорьева и др., 2019; Ильин, 1982; Киреева, 2001).

Помимо этого, неправильная утилизация песчано-глинистых грунтов часто приводит к загрязнению поверхностных и подземных вод. В числе наиболее распространенных путей загрязнения: попадание вредных примесей в водоемы через поверхностный сток и загрязнение грунтовых вод путем инфильтрации через массивы подобных грунтов. Ко всему прочему это влечет изменение гидрологического режима территории и может привести к оседанию взвешенного осадка в русле и заиливанию рек и водоемов (Abbas et al., 2021; Ahmad et al., 2021; Ullah et al., 2022).

В условиях интенсивного строительства вопросы обращения с песчано-глинистыми грунтами становятся особенно актуальными, так как увеличивается количество земляных работ и, соответственно, объем образующихся отходов.

Другим важным аспектом является влияние неправильно утилизированных грунтов на качество воздуха. При размещении таких материалов на открытых площадках возможно их разевание и поднятие пыли в атмосферу с последующим попаданием различных токсичных соединений в приземные слои и, в конечном итоге, организм человека. Также нередко происходит формирование вторичных загрязняющих компонентов, путем накопления оседающих частиц на значительном расстоянии от непосредственного источника, что в свою очередь приводит к нарушению эколого-геологического состояния территорий (Амосов, 2000; Манько, 2024).

Подобная ситуация особенно актуальна для крупных городских агломераций, где плотная застройка и ограниченные возможности для размещения отходов создают дополнительные трудности для их безопасной утилизации.

Некорректное обращение со грунтами при осуществлении строительной деятельности также негативно сказывается на флоре и фауне территорий. Основные проявления этого воздействия включают снижение численности чувствительных видов, нарушению экосистемных связей и как следствие – обеднению биоразнообразия (Ашихмина, 2014; Замотаев и др., 2018).

Экологические риски, связанные с неправильной утилизацией грунтов, сопровождаются серьёзными экономическими издержками. К основным экономическим потерям относятся: расходы на ликвидацию последствий загрязнения; снижение стоимости земельных участков; увеличение затрат на обеспечение экологической безопасности; потери сельскохозяйственного производства; дополнительные инвестиции в восстановление экосистем.

Среди прочих последствий возможно негативное влияние на здоровье населения, которое проявляется через повышение уровня заболеваний органов дыхания, ухудшение качества жизни населения и снижение экологической безопасности территорий (Россинская, 2012).

Эти факторы особенно актуальны для жителей промышленных центров и крупных городов, где концентрация строительных отходов наиболее высока.

Для снижения негативного воздействия неправильно утилизируемых грунтов применяются различные современные технологии:

- создание специализированных полигонов для размещения отходов;
- внедрение систем мониторинга за состоянием окружающей среды;
- использование методов механической и иной очистки грунтов;
- применение технологий биоремедиации;
- разработка новых способов переработки отходов.

Для минимизации негативных последствий при утилизации грунтов необходимо совершенствовать законодательную базу, что обеспечит четкое правовое регулирование данной сферы. Важным шагом также является внедрение передовых технологий переработки отходов, которые позволяют минимизировать негативное воздействие. Необходимо создать систему мониторинга за состоянием окружающей среды, которая будет своевременно выявлять и предупреждать потенциальные угрозы, связанные в том числе и с неправильным обращением грунтами, образующимися в ходе строительства. Кроме того, развитие международного сотрудничества в области управления отходами поможет обмениваться опытом и разрабатывать общие стратегии решения экологических проблем.

Таким образом, современные нормативные документы, регулирующие оценку экологической опасности грунтов (ГОСТ 17.4.1.02-2017, СанПиН 2.1.7.1287-03), не учитывают ключевые микробиологические показатели. Это приводит к различным экологическим последствиям: даже при «нормативных» концентрациях загрязнителей подавление

биологической активности микроорганизмов вызывает долгосрочную деградацию почв. Противоречия в классификации грунтов и отсутствие единых международных стандартов усугубляют проблему, затрудняя сопоставление данных и разработку мер по снижению вредных последствий.

Некорректная утилизация грунтов может провоцировать целый комплекс негативных последствий: загрязнение почв, водных объектов, снижение биоразнообразия, экономические потери и угрозы здоровью населения. Для минимизации последствий необходима корректировка законодательства с включением микробиологических критерииев, внедрение технологий биоремедиации, создание систем мониторинга и укрепление международного сотрудничества.

Выводы к главе 1

1. Строительная деятельность в России является одним из основных источников образования отходов, среди которых значительную долю занимают песчано-глинистые грунты. За последние 15-20 лет объёмы отходов устойчиво растут, при этом утилизируется лишь около половины их общего количества. Особое внимание вызывает увеличение доли малоопасных и неопасных отходов (IV и V классов), которые составляют более 98% от общего объёма, причём грунты занимают в них значительную часть. Решение проблемы требует разработки эффективных технологий рециклинга, совершенствования нормативной базы и методов оценки токсичности отхода.
2. Химико-аналитические методы, такие как атомно-абсорбционная спектрометрия и газовая хроматография, позволяют точно определять концентрации загрязняющих веществ в грунтах, включая тяжелые металлы, нефтепродукты и ПАУ. Однако они имеют ограничения: не учитывают синергетическое воздействие загрязнителей, требуют дорогостоящего оборудования и не отражают биологическую доступность токсикантов. Физико-химические и нормативно-расчетные методы также недостаточны для комплексной оценки, так как не учитывают биоаккумуляцию и влияние на грунтовую биоту.
3. Для повышения точности оценки класса опасности отходов химические методы необходимо дополнять биологическими, такими как биотестирование. Они позволяют учитывать биодоступность загрязнителей и их комбинированное воздействие, что особенно важно при работе (обращении) с песчано-глинистыми грунтами.
4. Эллюатный способ фитотестирования, хотя и удобен для предварительной оценки, имеет существенные ограничения, связанные с недоучетом прямого контакта растений с грунтом и потерей части загрязнителей при фильтрации. Поэтому для получения более точных и

репрезентативных результатов рекомендуется использовать аппликатный метод, который обеспечивает полный учет всех факторов при оценке токсичности среды. Дальнейшие исследования в этой области, включая сравнительный анализ эллюатного и аппликатного методов, помогут оптимизировать протоколы и повысить точность оценки экологических рисков при обращении с песчано-глинистыми грунтами, образующимися при осуществлении строительной деятельности.

5. Современные нормативные документы, регулирующие оценку экологической опасности грунтов (ГОСТ 17.4.1.02-2017, СанПиН 2.1.7.1287-03), не учитывают ключевые микробиологические показатели. Противоречия в классификации грунтов и отсутствие единых международных стандартов усугубляют проблему, затрудняя сопоставление данных и разработку мер по снижению вредных последствий.

6. Некорректная утилизация грунтов может провоцировать целый комплекс негативных последствий: загрязнение почв, водных объектов, снижение биоразнообразия, экономические потери и угрозы здоровью населения. Для минимизации последствий необходима корректировка законодательства с включением микробиологических критериев, внедрение технологий биоремедиации, создание систем мониторинга и укрепление международного сотрудничества.

Глава 2. Биологическая составляющая грунтов и проявления ее активности как один из факторов экотоксичности при оценке класса опасности

Оценка экотоксичности грунтов требует комплексного подхода, учитывающего не только химический состав и физические свойства, но и их биологическую компоненту. Живые организмы, такие как микроорганизмы, растения и беспозвоночные, являются ключевыми участниками биогеохимических процессов и индикаторами состояния окружающей среды. Их активность напрямую отражает уровень загрязнения и степень токсического воздействия на экосистемы и человека.

В данной главе рассматривается роль биологической составляющей грунтов в оценке их экотоксичности и класса опасности. Учет биологической активности грунтов становится важным критерием для более точной и объективной оценки их экологической значимости, особенно в условиях антропогенного воздействия.

2.1. Общая характеристика биологической составляющей грунтов

Биологическая составляющая грунтов играет ключевую роль в поддержании экологического баланса и функционировании грунтовых систем. Она включает в себя широкий спектр видов живых организмов, для которых грунты служат временной или постоянной средой обитания. К их числу относятся, например, микроорганизмы, почвенные беспозвоночные, а в близких к поверхности горизонтах и корневые системы растений, которые взаимодействуют между собой, обеспечивая процессы разложения органических веществ, круговорота элементов и формирования структуры грунтов (Звягинцев, 2005).

При этом в отношении грунтовой биоты действует общее правило, сформулированное зоологами и почвоведами на основе совместных исследований: между размерами тела и численностью организмов в грунтах существует прямая отрицательная зависимость, то есть наибольшими по плотности и общему числу популяции являются обладатели малого размера, а более крупные наоборот. Из этого следует, что наиболее распространенной и, пожалуй, оказывающей наибольшее влияние на структуру и свойства грунтов является микробиота.

Как известно, микроорганизмы являются одними из наиболее примитивных и древних организмов на Земле. Они делятся на доядерные прокариоты (*Prokaryota*) и ядерные эукариоты (*Eukaryota*). При этом, в грунтовых массивах встречаются представители обоих надцарств. Среди представителей прокариотов, в грунтах отмечались бактерии (подцарство *Bacteriobionta*) и цианеи или по-другому цианобактерии (подцарство *Cyanobionta*), а также сине-зелёные водоросли. Из числа представителей эукариотов можно встретить низшие растения (подцарство *Thallobionta*), к которым относятся низшие водоросли (исключая сине-зелёные); низшие грибы

(подцарство *Myxobionta*) и из царства животных (*Animalia*) — простейшие одноклеточные (подцарство *Protozoa*) (Грунтоведение, 2005).

Рассматривая более подробно каждую из перечисленных групп, особое внимание стоит уделить **бактериям** (подцарство *Bacteriobionta*). В грунтовых массивах обычно присутствуют виды, имеющие и гетеротрофное (не способны самостоятельно синтезировать органические вещества из неорганических соединений), и автотрофное (образуют органические вещества самостоятельно) питание. При этом для определения типа питания, а также их систематического положения крайне важен не только цвет бактерий, но также их форма (рисунок 7).



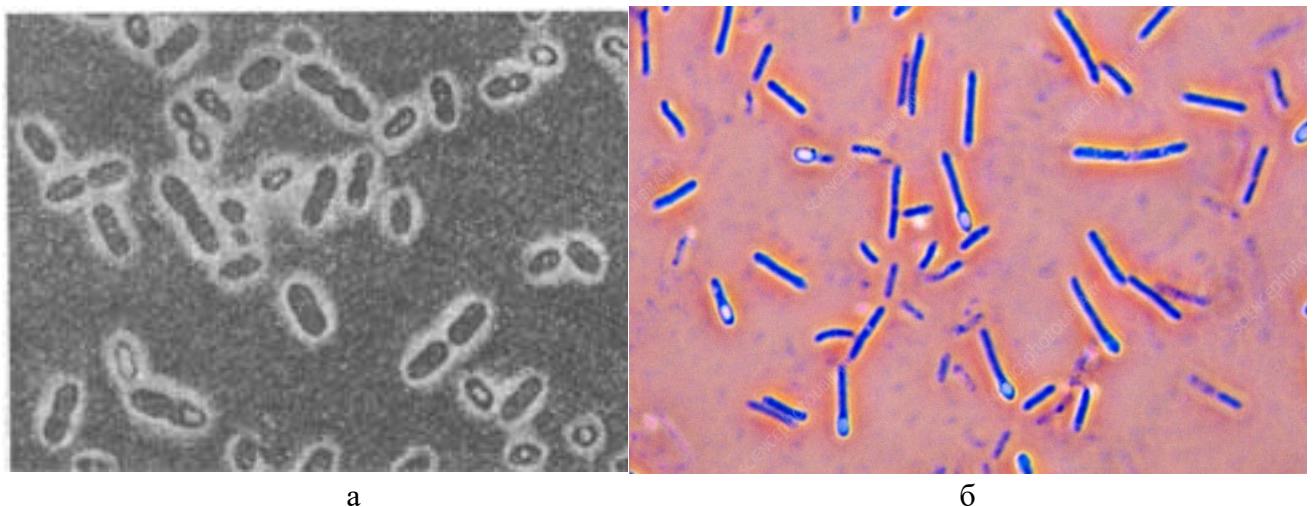
Рисунок 7. Основные формы различных бактерий: 1-6 — шаровидные: 1 — стафилококки; 2, 3 — диплококки; 4 — стрептококки; 5 — тетракокки; 6 — сарцины, 7—9 различные виды палочек: 10—12 — спиралевидные формы: 10- вибрионы: 11, 12 — спирILLы (Грунтоведение, 2005)

На основе этих, а также ряда иных факторов, бактерии подразделяют на классы и порядки:

- эубактерии (*Eubacteriales*) — одноклеточные кокки, палочки и спирально извитые формы, спирохеты и др.;
- трихобактерии (*Trichobacteriales*) — многоклеточные нитчатой формы бактерии с поперечными перегородками;
- железобактерии (*Ferribacwriales*) — железоокисляющие и железовосстановливающие, одноклеточные не нитчатые автотрофные бактерии;

•тиобактерии, или серобактерии (*Thiobacteriales*) — одноклеточные автотрофные серобактерии, окисляющие восстановленные соединения серы, а также сульфатвосстанавливающие, метанотрофные бактерии и др (Грунтоведение, 2005).

При этом, некоторые виды бактерии имеют свою специфику приуроченности к определенным видам пород. Например, *азотобактер* (рисунок 8, а) широко распространены в известковистых грунтах, и связывают атмосферный азот. Бактерия *клостридиум* также способна связывать азот, распространена как в кислых, так и известковистых грунтах и почвах (рисунок 8, б). Однако в отличие от азотобактера она живет в анаэробных условиях, то есть без доступа атмосферного воздуха (Грунтоведение, 2005).



а

б

Рисунок 8. Азотобактер (а) (Bacterias Fijadoras de Nitrógeno en Costa Rica. URL: <https://azotobacter-ina-tec.blogspot.com>) и клостридиум (б) (Science Source. URL: <https://www.sciencesource.com>) под микроскопом

Из числа **цианобактерий** (*Cyanobionta*), сине-зелёные водоросли (*отдел Cyanophyta*) сильнее всех приурочены к диапазону возможных глубин обитания. Чаще всего они приурочены к почвенным горизонтам и подстилающим их породам (Алексеева, 2009; Грунтоведение, 2005; Заварзин, 1972). В грунтовых массивах, уже без столь узкой приуроченности к глубинам, можно встретить и других представителей цианобактерий: зеленые (*Chlorophyta*), желтозеленые (*Xanthophyta*) и диатомовые (*Bacillariophyta*) водоросли.

Помимо бактериальных форм жизни, не с меньшей частотой встречаются представители **низших грибов** (*подцарство Myxobionta*). Они представлены различными споровыми слизистыми формами с абсорбтивным питанием (тип питания, при котором организмы всасывают поверхностью тела растворённые органические вещества) (Аристовская, 1980; Мирчик, 1988). Чаще всего это формы, прикрепленные к твердой фазе грунта. К низшим грибам

относятся дрожжи, или сахаромицеты (*Sacharotnycerales*) - одноклеточные организмы, питающиеся сахаристыми веществами.

Также, в числе микроорганизмов, встречаемых в грунтовых массивах, можно обнаружить представителей царства **животных** (*Animalia*). Чаще всего это одноклеточные или колонии из числа **простейших** (подцарство *Protozoa*) (Грунтоведение, 2005).

Однако помимо микроорганизмов, в почвенных горизонтах, а также на более высоких глубинах, обитают различные виды макроорганизмов. Они представлены различными (главным образом высшими) *растениями* (*Embryobionta*), *грибами* (*Mycobionta*) и *многоклеточными животными* (*Metazoa*). Однако в рамках эктоксикологических исследований, чаще всего представители многоклеточных животных не оказывают серьезного влияния, в связи с чем уделим особое внимание высшим растениям и гриbam.

Последние, наряду с высшими растениями и микроорганизмами, оказывают огромное влияние на структуру и химический состав грунтов. Причиной этому является их осмотрофный тип питания и отношение к классу редуцентов, разлагающих сложные органические соединения до более простых (Аристовская, 1980).

Таким образом, биологическая составляющая грунтов, включающая микроорганизмы, почвенных беспозвоночных и корневые системы растений, играет ключевую роль в поддержании экологического баланса и функционировании грунтовых систем. Наибольшее влияние на структуру и свойства грунтов оказывают микроорганизмы, среди которых выделяются бактерии, цианобактерии, низшие грибы и простейшие. Особое значение имеют бактерии, обладающие разнообразными формами питания и спецификой приуроченности к определенным типам пород, а также грибы, способствующие разложению органических веществ. В совокупности с высшими растениями они формируют основу биотического взаимодействия, определяющего химический состав и структуру грунтов, что делает их неотъемлемой частью при оценке экологического состояния грунтов при проведении эктоксикологических исследований.

2.1.1 Качественные характеристики и условия существования биотической составляющей в грунтах

Определить общую численность биотической составляющей грунтовых массивов почти не представляется возможным. Причиной этому служит прямая зависимость между численностью живых организмов и пористостью (пустотностью) пород. Это обусловлено тем, что живые организмы могут находиться в грунте лишь на поверхности твердых минеральных частиц, в поровом растворе, в порах, трещинах, кавернах и пустотах. Учитывая это, можно сделать вывод,

что чем меньше пористость пород – тем меньше биомасса в них. Таким образом наиболее малочисленными по данному параметру будут являться скальные породы. В свою очередь в рыхлых, пористых породах, к числу которых относятся почвы, песчаные и супесчаные грунты, лёссы, сапропелевые грунты и др., доля биотической составляющей будет значительна. Например, общая биомасса организмов в почвах (в сухом весе) может достигать 0,5 т/га (таблица 2) (Грунтоведение, 2005).

Таблица 2

Воздушно-сухая биомасса различных организмов в лесной почве, кг/га
(Грунтоведение, 2005 по данным Satcell, 1970)

Организмы	Количество биомассы	Организмы	Количество биомассы
Актиномицеты	0,2	Клещи	1
Прочие бактерии	7	Коллемболы	2
Грибы	454	Двукрылые насекомые	3
Простейшие	1	Прочие членистоногие	6
Нематоды	2	Общая микрофлора	461
Дождевые черви	12	Общая микрофауна	36
Энхитраиды	4	Общая биомасса	497
Моллюски	5		

Как можно заметить из таблицы 2, большую долю биомассы составляют грибы, а микроорганизмы в свою очередь, хоть и занимают второе место, по общей численности биомассы сильно уступают. При этом, в подстилающих дисперсных породах, в зависимости от типа грунта эта величина может снижаться еще сильнее, с 8-10 кг/га до 0,5-1 кг/га. Однако малая доля в общей биомассе никак не отражает значимость и степень влияния на состав, состояние и свойства грунтов. Кроме того, с глубиной количество биомассы макроорганизмов резко убывает, тогда как биомасса микроорганизмов снижается более плавно; именно микроорганизмы способны достигать глубоких горизонтов в горных породах (Дашко, 2014; Экология микроорганизмов, 2004).

При этом, суммарная общая поверхность этих микроорганизмов может достигать огромных значений, благодаря чему ими и оказывается сильное влияние на состав и свойства грунтов (Гиляров, Криволуцкий, 1995). Особенno высокая концентрация микроорганизмов наблюдается в голоценовых пойменных, старицких, болотных грунтах, а также в техногенных отложениях, таких как культурные слои, и осадках сточных вод (Экология микроорганизмов, 2004).

Многие микроорганизмы выступают симбионтами растений, среди которых особое место занимают азотфикссирующие бактерии, такие как азотобактеры (рисунок 8, а), образующие скопления азота в виде клубеньков на корнях растений. Эти клубеньковые бактерии,

большинство из которых принадлежит к роду *Rhizobium*, накапливают различные химические элементы, обогащая грунты, включая почвы. Они способны усваивать аммонийные соли, нитраты, аминокислоты и другие соединения, а после разрушения клубеньков могут существовать в грунтах как сапрофиты (Максимович, 2012).

Термодинамические условия существования микроорганизмов в грунтах характеризуются широким диапазоном значений температуры и давления. Некоторые микроорганизмы способны выживать при отрицательных температурах до -7°C и обнаружены даже во льдах Антарктиды и многолетнемерзлых породах. Для большинства микроорганизмов наиболее благоприятной является температура в диапазоне от $+4\text{--}6^{\circ}\text{C}$ до $+30\text{--}35^{\circ}\text{C}$, однако некоторые виды встречаются в подземных горячих источниках при температуре выше $+80^{\circ}\text{C}$. Споры определенных бактерий сохраняются даже при прогреве до $+165^{\circ}\text{C}$ в течение двух часов или кипячении в соляной кислоте. Микроорганизмы также устойчивы к гидростатическому давлению вплоть до 100 МПа, что значительно отличает их от макроорганизмов (Грунтоведение, 2005).

Реакция грунтовых водорослей на влажность грунтов демонстрирует их высокую чувствительность к изменениям условий среды. При сильном увлажнении в грунтах преобладают нитчатые синезеленые водоросли из категории осцилляториевых и зеленые водоросли рода *Zygnema*, являющиеся типичными гидрофильными видами. В условиях умеренного увлажнения доминируют зеленые и желто-зеленые водоросли, которые служат индикаторами чистых, не загрязненных грунтов и исчезают при появлении техногенных загрязнителей (Экология микроорганизмов, 2004).

Разрастания водорослей в грунтах подвержены сезонным изменениям: весной в поверхностных слоях преобладают диатомовые, зеленые и желто-зеленые водоросли; летом — зеленые и желто-зеленые; осенью — синезеленые, составляющие 93–99% численности и 60–90% биомассы всех разрастаний. Численность водорослей в пятнах «цветения» может достигать 2–16 млн клеток на 1 см². Большинство низших водорослей обитают либо в форме, прикрепленной к твердой фазе, либо в свободной форме в поровом водном растворе, мигрируя с фильтрующейся жидкостью благодаря своим микроскопическим размерам (Куриленко, 2004).

Условия существования низших грибов в грунтах во многом сходны с низшими водорослями, так как их споры (рисунок 9) также могут выдерживать значительные диапазоны колебаний температуры и давления.

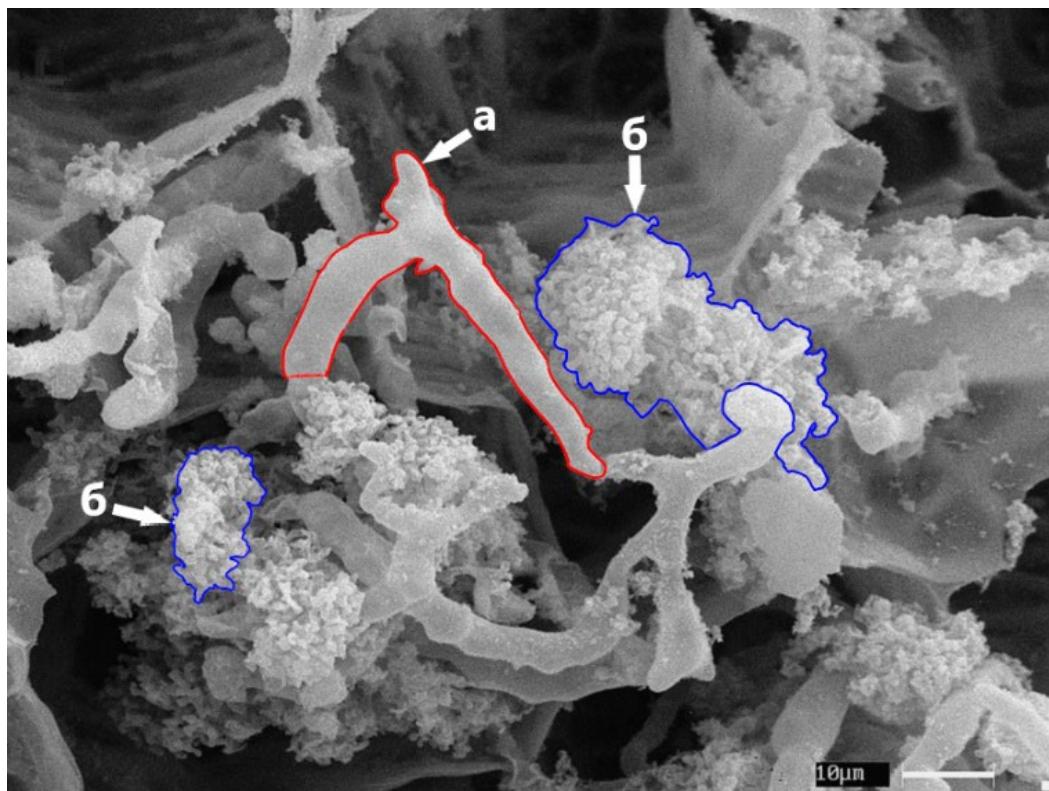


Рисунок 9. Электронно-микроскопическая фотография: а - арбускул (виоизменений мицелия у грибов микоризообразователей) и б – колоний спор грибов на корнях растения *Prumnopytis ferruginea* (ResearchGate. URL: <https://www.researchgate.net>)

Однако термодинамические условия существования макроорганизмов в грунтах характеризуются более узким диапазоном температур и давлений по сравнению с микроорганизмами, при этом макроорганизмы распространены преимущественно в приповерхностной части грунтовых толщ (Грунтоведение, 2005).

Условия жизни растений, обладающих автотрофным типом питания и способностью к фотосинтезу, определяются их вещественно-энергетической обеспеченностью, которая зависит от снабжения влагой и питательными веществами через корневую систему. Вокруг корней растений формируется зона повышенного содержания микроорганизмов, которая называется ризосферой. Корни высших растений распространены в основном в приповерхностной части почв, однако глубина их проникновения варьирует в широких пределах: у некоторых травянистых растений она достигает 15 м и более (рисунок 10). Особенно глубокие корни характерны для растений, произрастающих в сухом или засушливом климате, где они достигают водоносных горизонтов и каймы капиллярной влаги (Битюцкий, 2014).

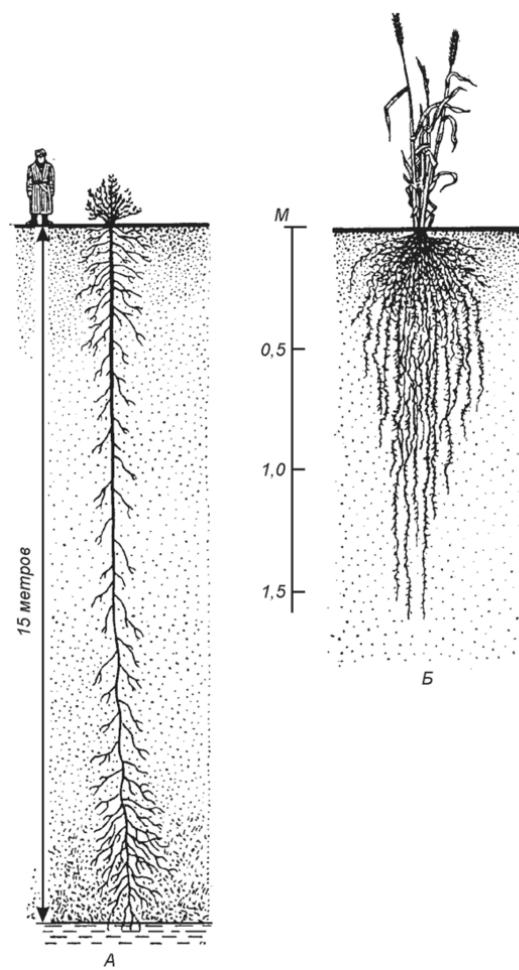


Рисунок 10. Корни А — верблюжьи колючки (засушливый климат); Б — пшеницы (умеренный климат) (Степановских, 2017)

Соотношение биомассы надземной и подземной частей растений зависит от почвенно-климатических условий. В сухом климате и маловлажных грунтах преобладает развитие корневой системы, тогда как во влажном климате и на богатых влагой почвах основной акцент делается на развитие наземной части. Например, у пустынной растительности масса корней может превышать массу надземной части в 10–20 раз. Для некоторых регионов Северной Америки установлено, что ежегодно на каждый квадратный метр почвы обновляется около 0,5 кг корней, что составляет 25% их общей биомассы (Степановских, 2017).

Многие грибы в почвах и других грунтах существуют в симбиозе с растениями, концентрируясь вблизи их корней. *Около 80% грибов обитают непосредственно на корнях, образуя микоризу* (рисунок 11). Микориза благоприятно влияет на растения благодаря развитому мицелию, который увеличивает поглощающую поверхность корней. В свою очередь, грибы получают из корней растений необходимые углеводы и другие вещества, что делает этот симбиоз взаимовыгодным (Битюцкий, 2014; Мирчинк, 1988).



Рисунок 11. Микориза на корнях растений (VanHall. URL: <https://van-hall.ru>)

Таким образом, численность и биомасса биотической составляющей грунтов напрямую зависят от пористости и типа пород, при этом наибольшая концентрация организмов наблюдается в рыхлых, пористых грунтах, таких как почвы и песчано-глинистые грунты. Основную долю биомассы составляют грибы, тогда как микроорганизмы, несмотря на меньшую биомассу, оказывают значительное влияние на состав и свойства грунтов благодаря своей высокой численности и способности проникать в глубокие горизонты. Микроорганизмы демонстрируют уникальную устойчивость к экстремальным термодинамическим условиям, что позволяет им существовать в широком диапазоне температур и давлений. Особое значение имеют симбиотические отношения между растениями, микроорганизмами и грибами, такие как образование микоризы, которые способствуют обогащению грунтов различными веществами.

2.1.2 Влияние жизнедеятельности биоты на состав, строение, состояние и свойства грунтов

Микроорганизмы оказывают значительное влияние на состав твердой, жидкой и газовой компонент грунтов, обусловливая разрушение минералов, их трансформацию, новообразование, а также минерализацию, гумификацию и консервацию органического вещества. Они меняют состав порового раствора, образуют и потребляют газы, что в совокупности формирует уникальные условия в грунтах (Подлипский, 2010).

Разрушение минералов происходит под воздействием микроорганизмов, таких как микроскопические водоросли, нитрифицирующие и тионовые бактерии, мицелиальные грибы и

дрожжи, которые активно деструктурируют силикаты, алюмосиликаты и доломиты. Механизмы разрушения включают ферментативные процессы, осуществляемые литотрофами, которые окисляют элементы переменной валентности для получения энергии, и гетеротрофами, использующими элементы высоких валентностей, как окислители в анаэробных условиях. Например, тиобациллы разрушают пирит и халькопирит, а другие микроорганизмы — лимонит и гётит (Болотина, 1985).

Менее специфичное воздействие оказывают микробные метаболиты. Например, серная кислота, образуемая тиобациллами, вызывает распад некоторых алюмосиликатов, а азотная кислота, образуемая нитрификаторами, усиливает процесс выветривания известковых пород. Органические кислоты, слизи и другие продукты метаболизма бактерий и низших грибов способствуют образованию комплексных соединений, что приводит к распаду минералов. Важную роль играют щелочи, например, сода, образующаяся при сульфатредукции, и сероводород, который разрушает минералы трехвалентного железа и алюмосиликаты (Грунтоведение, 2005; Звягинцев, 1973).

При воздействии микроорганизмов на минералы первыми приобретают подвижность щелочные элементы, затем щелочноземельные, и только после этого — кремний и алюминий (Донияров, 2020). Вынос элементов из минералов в присутствии микроорганизмов в два-три раза выше, чем под действием воды или "мертвого" органического вещества. Интенсивность выноса зависит от прочности связей в кристаллической решетке, типа микроорганизма и условий разложения. Так, известно, что полное разрушение минералов наблюдается при деструкции нефелина, биотита, карбонатов и др., что во многом и способствует развитию карста (Максимович, 2012).

Трансформация минералов происходит при избирательном выносе элементов из кристаллической решетки или при окислении и восстановлении входящих в нее элементов (Болотина, 1985). Примером служит вермикулизация биотита или трансформация пирита в минералы типа натроязита под воздействием железоокисляющих тиобацилл. В анаэробных условиях сульфатредуцирующие бактерии способствуют обратному процессу — пиритизации сульфатных минералов, таких как ярозит и алуният. Активная сульфатредукция может привести к замещению ангидритовой породы кальцитом и серой, а в глинистых грунтах — к уменьшению содержания гипса и формированию сульфидных минералов, обуславливающих темную окраску почвы (Грунтоведение, 2005).

Микроорганизмы также способствуют новообразованию минералов, таких как карбонаты, гётит, гематити сульфидные минералы (Алексеева, 2009; Аристовская, 1980). Образование карбонатов происходит за счет взаимодействия углекислоты, выделяемой микроорганизмами

при дыхании и брожении, с катионами среды. При окислении железа микроорганизмами образуется ферригидрит, который в связи с крайней неустойчивостью самопроизвольно превращается в гетит или гематит, а при окислении марганца образуется пиролюзит, или подобные по составу или свойствам минералы. Особую роль в этих процессах играют микроорганизмы рода *Metallogenium*, которые накапливают окислы алюминия, что может быть связано с формированием латеритных бокситов. Концентрация алюминия как остаточного продукта происходит при разложении алюмосиликатов и выносе более растворимых элементов. Наиболее ярким примером подобных процессов может служить исследование И.В. Болотиной (1985), которая микробиологическим путем установила образование гипса в лёссовых грунтах.

Выделение продуктов метаболизма микроорганизмами, поглощение элементов из минералов и жидкой фазы приводят к изменениям не только минерального состава, но и состава обменных катионов, жидкой и газовой фаз, ионной силы растворов и окислительно-восстановительных условий. Микроорганизмы активно преобразуют твердые органические компоненты грунта, которые подвергаются минерализации, гумификации или консервации (Грунтоведение, 2005; Заварзин, 1972; Звягинцев, 1973).

Минерализация органического вещества происходит преимущественно в теплом климате, где микроорганизмы играют ключевую роль в разложении органики, поддерживая равновесие между ее формированием и разрушением.

Гумификация представляет собой длительный процесс, результатом которого является образование гумуса, состоящего из наиболее устойчивых компонентов и продуктов микробного обмена.

При слабом развитии минерализации и гумификации происходит консервация полуразложившегося материала, что приводит к формированию торфа, углей, сапропелевых образований и других полезных ископаемых.

Описанные процессы также влияют на состав порового раствора грунта, который насыщается различными компонентами под действием микроорганизмов, приобретая свойства кислот, щелочей или нейтральных растворов. Развитие микроорганизмов сопровождается потреблением или выделением газов, что изменяет состав поровых газов в грунте. Разложение органических веществ, бикарбонатов и сульфатов приводит к выделению CO_2 , N_2 , NH_3 , H_2S , CH_4 и летучих органических веществ. Потребление газов происходит при нитрификации NH_3 , азотофиксации, окислении H_2 , CH_4 , CO , H_2S и SO_2 (Грунтоведение, 2005).

Микроорганизмы также обладают возможностями к применению в рекультивации и обезвреживании от различного рода загрязнителей: сульфатвосстанавливающие бактерии (*Desulfotomaculum*, *Desulfobacterium*, *Desulfonema*) окисляют ацетат, а метилотрофы и

метанотрофы (*Methylobacter*, *Methylococcus*, *Methylocystis*) используют метanol, метан и метилированные амины в качестве источников углерода (Грунтоведение, 2005).

Таким образом, микроорганизмы, выделяя продукты метаболизма и образуя новые соединения, оказывают значительное влияние на структуру и состояние грунтов. Эти соединения концентрируются на поверхности частиц и их контактах, формируя биогенные структурные связи, которые изменяют структуру грунта. "Склейивание" частиц продуктами жизнедеятельности микроорганизмов приводит к агрегации частиц, изменению структуры порового пространства и соотношения пор различного размера (Иванов, 2015).

Адсорбция микроорганизмов на поверхности дисперсных частиц также способствует этим процессам. Бактерии участвуют в образовании и разрушении цементирующих соединений, таких как окислы железа, марганца, алюминия, серы, соединений кальция и органических веществ, что влияет на степень агрегированности минеральных частиц. Микробные клетки и продукты метаболизма связывают частицы, пронизывая их мицелием и пропитывая органическими веществами, окислами Fe, Mn, Al, карбонатами и другими соединениями (Звягинцев, 1973).

Особую роль в агрегации играют микробные полисахариды, которые заполняют тонкие поры и формируют сети, опутывающие скопления глинистых частиц. Однако полисахариды могут также снижать прочность структурных связей, проявляя поверхностно-активные свойства. Восстановление окислов, деструкция органики и образование растворимых форм под действием метаболитов с кислотными или комплексообразующими свойствами также ослабляют связи между частицами. В аэробных условиях микроорганизмы обычно проявляют агрегирующее действие: например, за два месяца бактерии, образующие карбонат кальция, могут почти вдвое увеличить число агрегатов размером 0,5–0,25 мм. В восстановительных условиях, напротив, наблюдается разрушение микроагрегатов размером 0,25–0,05 мм и увеличение содержания частиц размером 0,001 мм (Болотина, 1985).

Взаимодействие микроорганизмов с компонентами грунта также влияет на физические, физико-химические и физико-механические свойства. Они изменяют электроповерхностные свойства частиц, изменяя их заряды при адсорбции отрицательно заряженных клеток или продуктов метаболизма, функциональные группы которых могут иметь как положительный, так и отрицательный заряд (Грунтоведение, 2005).

Многие бактерии используются в биогеотехнологиях, включая методы очистки грунтов от загрязнителей. В последнее время выделено множество форм микроорганизмов, применяемых для очистки грунтов от различных токсичных загрязнителей (Созина, 2023).

Геохимические функции высших растений заключаются в создании органических веществ в процессе фотосинтеза, извлечении из пород химических элементов (например, P, K, Na, Ca),

которые служат питательными веществами, а также в их концентрировании и пространственном перераспределении. Растения используют грунты как субстрат для прикрепления и источник питательных веществ, потребляя их корнями первоначально из газовой компоненты грунта, затем из порового раствора, и, наконец, из твердого компонента. В свою очередь, корни могут накапливать определенные вещества, которые затем поступают обратно в грунт (Битюцкий, 2014).

Грибы также играют важную роль в геохимическом круговороте веществ биосфера благодаря огромной площади внешней всасывающей поверхности гифов. Они активно поглощают компоненты из почв и горных пород, передают их растениям и, наоборот, выделяют ферменты, метаболиты и другие вещества, влияющие на состав грунтов (Мирчинк, 1988).

Некоторые ферменты грибов могут оказывать токсическое действие на растения, человека и другие организмы, однако данный эффект пока недостаточно изучен. При техногенном загрязнении грунтов грибы способны осмотически концентрировать в своем теле токсичные компоненты, формируя геохимические аномалии, которые через пищевые цепи могут негативно влиять на экосистемы. Известно, что грибы могут накапливать тяжелые металлы, именно поэтому, например, сбор съедобных грибов рекомендуется проводить вдали от автомобильных дорог и промышленных зон (Терехова, 2007).

На структуру и состояние грунтов влияют и растения, активно участвующие в биологическом выветривании горных пород. Корни и корневые выделения также влияют на формирование свойств микроагрегатов пород и почв.

Влияние растений на грунты проявляется в обеспечении биогеохимического круговорота веществ, действии на структуру и, как следствие, изменении свойств грунтов. Растения перераспределяют влагу в породах, а углекислота, выделяемая корнями, усиливает растворяющее действие воды, что может обуславливать агрессивность среды. Микроорганизмы и их выделения повышают пористость, аэрацию, влагоемкость и водопроницаемость грунта, изменяют водопрочность структуры, снижают кислотность и способствуют минерализации органических веществ (Грунтоведение, 2005).

Таким образом, биотическая составляющая играет ключевую роль в формировании состава, структуры, состояния и свойств грунтов и должна рассматриваться в экологогеологических исследованиях и при инженерно-экологических изысканиях наряду с другими компонентами. Её изучение позволяет не только оценить степень загрязнения, но и прогнозировать долгосрочные последствия для экосистем и человека.

2.2. Роль микробиологической составляющей при оценке экотоксичности

Оценка микробиологической активности становится важным компонентом при анализе экотоксичности грунтов, особенно в условиях антропогенного воздействия. В данном разделе рассмотрим функциональные роли микроорганизмов в грунтах, методы оценки их активности и значение этих данных для определения класса опасности грунтов. Особое внимание уделим индикаторным показателям микробиологической активности и их взаимосвязи с другими критериями экотоксичности.

Микроорганизмы как индикаторы экологического состояния грунтов. Микроорганизмы в грунте служат одним из наиболее чувствительных показателей их общего экологического состояния: состав микроорганизмов, численность и биомасса быстро реагируют на антропогенные воздействия и нарушение природных процессов. Так, при загрязнении почв свинцом количество культивируемых микроорганизмов резко уменьшается, а биомасса почвенного микробного сообщества снижается в несколько раз (Корнейкова, 2023; Савич и др., 2019). В то же время интенсивная техногенная нагрузка может приводить к качественным сдвигам: например, вблизи медно-никелевого комбината «Печенганикель» число копий рибосомальных генов бактерий, архей и грибов оказалось выше, чем на фоновых участках, хотя общая микробная биомасса при этом значительно упала (Корнейкова, 2023). Такие изменения отражают либо адаптацию сообщества (увеличение одних групп), либо накопительную токсичность (снижение общей активности). В целом, состав микробного сообщества, включая бактериальную и грибную фракции, считается интегральным индикатором деградации или восстановления почвы: исторически показано, что биологические характеристики почв коррелируют с нарушением их функций и пригодностью к растениеводству. Практически это означает, что для оценки экологического состояния грунтов используют картирование микробиологических параметров (биомасса, число КОЕ, генетическая сложность и т.п.), позволяющее выявлять зоны загрязнения и степени их воздействия на биоту (Корнейкова, 2023; Савич и др., 2019).

Методы оценки микробиологической активности грунтов. Оценка микробной активности может осуществляться широким спектром методов, позволяющих учитывать, как количество микроорганизмов, так и их метаболическую активность и функциональное разнообразие.

Прямые методы включают люминесцентную микроскопию с флуоресцентными красителями (Никитин, 2022; Biofilms..., 2023; Bio-zeolite..., 2021), благодаря чему подсчитывается общее число клеток микроорганизмов в образце (рисунок 12). Однако у метода флуоресцентной микроскопии в отношении грунтов есть существенный недостаток: кварц

просвечивается лазером, а глинистые минералы сами связываются с красителем, также нельзя исключать ещё автофлуоресценцию гуминовых кислот (Biogeochemical..., 2023; Bio-zeolite..., 2021).

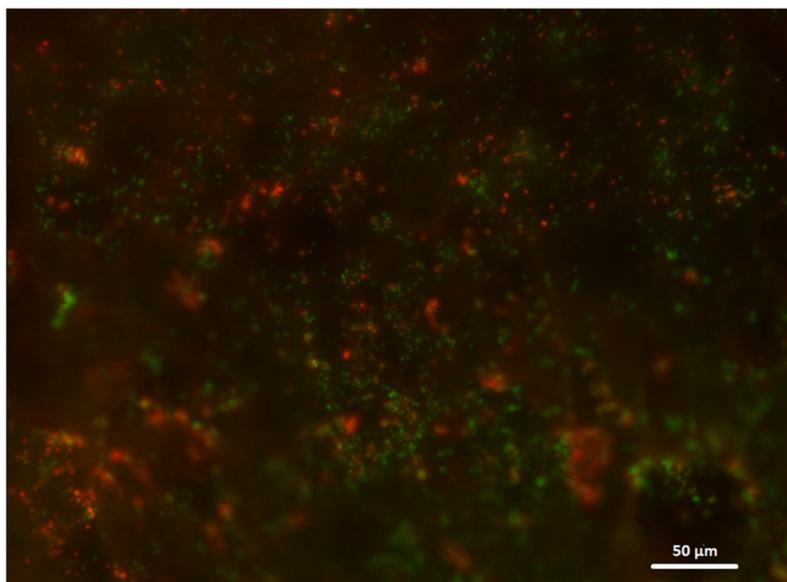


Рисунок 12. Электронно-микроскопическая фотография подсвеченных (красным) микроорганизмов *Shewanella xiamenensis* на поверхности цеолита после визуализации с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (Bio-zeolite..., 2021)

Физиологические методы основываются на измерениях дыхательной активности: наиболее характерный пример – метод субстрат-индукционного дыхания (SIR), при котором фиксируется эмиссия CO₂ грунтом в течение нескольких часов после внесения легкоусвояемого субстрата (например, глюкозы). Обычный почвенный дыхательный индекс (ПД), отражающий выделение CO₂ при окислении органики микроорганизмами, также широко используется в качестве классической оценки биологической активности, поскольку хорошо коррелирует с микробной биомассой (Никитин, 2022).

Биохимические и молекулярные методы включают определение содержания биомаркеров микробной биомассы: например, фосфолипидные жирные кислоты (PLFA) как следы клеточных мембран микроорганизмов, уровни ДНК/РНК, АТФ и др. Пересчетное содержание углерода микробной биомассы по этим показателям требует уточнения коэффициентов, однако эти подходы дают возможность учесть функциональное разнообразие сообщества. В качестве индикаторов активности применяются также ферментативные тесты (например, активность дегидрогеназы, уреазы, фосфатазы и др.), анализ метаболических профилей (биопленки, потребление субстратов) и другие методы, дополняющие картину микробиологического статуса грунта (Никитин, 2022).

Индикаторы микробиологической активности при оценке экотоксичности. При экотоксикологических исследованиях грунтов в современной практике основными микробиологическими индикаторами выступают те же параметры, что и при оценке состояния почвы. Ключевые из них – содержание особо опасных видов в образце, а также микробная биомасса и дыхательная активность, поскольку токсикант подавляет рост и метаболизм микроорганизмов. В частности, снижение суммарного дыхания грунта и величины С_{мик} (углеродного содержания микробной биомассы) свидетельствует о токсичности загрязнения (Экология микроорганизмов, 2004). Часто измеряют активность ферментов (например, дегидрогеназы) как индикатор общей биоактивности грунта: низкая активность сигнализирует об угнетении микрофлоры. Современные исследования также используют показатели структуры сообщества: например, количественный PCR (полимеразная цепная реакция) рибосомных генов оценивает изменение численности бактерий, архей и грибов (Корнейкова, 2023), а PLFA (жирные кислоты фосфолипидов) -анализ выявляет сдвиги в группах микроорганизмов. Для интеграции результатов применяется ряд комплексных индикаторов. Так, предложен «Интегральный показатель биологического состояния» (ИПБС) почвы, в основе которого – балльная оценка нескольких микробиологических и биоиндикационных показателей по отношению к фоновому максимуму. Другой подход – Функциональный биоразнообразный индекс (ФБР) микробиома, вычисляемый по спектру потребления различных субстратов многомерным тестом (Терехова, 2022). Эти комплексные индикаторы позволяют выразить состояние микробного сообщества одной величиной для удобства оценки экотоксичности.

Связь микробиологической активности с критериями экотоксичности. Микробиологические показатели дополняют традиционные химические и экологические критерии оценки токсичности грунтов. Часто в комплексных исследованиях выявляют несоответствие чувствительности тест-систем. Например, Плеханова И.О. и соавт. (2019) показали, что семена горчицы белой (*Sinapis alba*) перестают нормально прорастать при концентрациях тяжелых металлов, достаточных для влияния на биологический процесс «дыхания» почвы (поглощение и выделение CO₂). Это говорит о том, что для растений и микроорганизмов могут существовать разные пороги токсичности тех или иных элементов и их соединений. Вместе с тем угнетение микробной активности зачастую коррелирует с ростом содержания поллютантов: при превышении предельно допустимых концентраций тяжёлых металлов фиксируется резкое падение С_{мик} (углеродного содержания микробной биомассы) и дыхания почвы (Корнейкова, 2023; Савич и др., 2019). Такие взаимосвязи позволяют использовать микробные индикаторы в совокупности с физико-химическими данными для построения интегральной оценки экологической опасности. На практике применяют

интегрирующие схемы: например, методология «Триада» (TRIAD) и российский ИПБС (Терехова, 2022; Цепина, Колесников, 2023) объединяют химические, биоиндикационные и экотоксикологические параметры в единую оценку. В результате микробиологические измерения помогают идентифицировать сочетанные или кумулятивные эффекты токсикантов, которые могут не проявиться только при анализе концентраций загрязняющих веществ. В частности, микробиологическая составляющая позволяет оценить биодоступность загрязнителей и реальный «биологический» класс опасности грунта, дополняя формальные химические критерии.

Перспективы развития диагностики микробиологической составляющей. Современная экотоксикология активно расширяет инструментарий микробиологической диагностики. Большое внимание уделяется молекулярным и «-омным» технологиям: применение геномики и транскриптомики почвенных сообществ, а также анализа метаболомов микроорганизмов позволяет выявлять ранние маркеры токсического стресса в ДНК- и РНК-профилях. В обзоре В.А.Тереховой отмечено, что перспективно использование OMICS-технологий и молекулярных биомаркеров для более точной оценки токсичности почв и сопредельных сред (в нашем случае, грунтов) (Терехова, 2022).

На локальном уровне изучают специфические биомаркеры стресса. Например, изменения в составе фосфолипидных липидов микромицетов показаны как ответ на факторы стресса (Федосеева, 2021). Для практического мониторинга продолжает развиваться концепция биотестирования: в том числе используются биоаналитические сенсоры (бактерии-люминесценты, инфузории и др.) в батареях тестов.

В мировых стандартах (ISO 19204:2017) закреплен триадный подход, объединяющий химические измерения, анализ биодоступности и биотестирование. Соответственно, в России наметилась интеграция микробиологических индикаторов в общую систему мониторинга: вводятся комплексные индексы (Интегральный Показатель Биологического Состояния (ИПБС) и др.) и учитывается микробный компонент при присвоении классам опасности грунтов и других видов отходов. В совокупности это позволяет обеспечить более надежную практическую оценку уровней риска загрязнённых грунтов с учётом их биологического эффекта.

Таким образом, микробиологическая составляющая грунтов является одним из ключевых индикаторов их экологического состояния, отражающая как краткосрочные, так и хронические эффекты антропогенного воздействия. Чувствительность микроорганизмов к загрязнению позволяет выявлять ранние признаки токсичности, которые могут оставаться незамеченными при традиционных химических анализах. Методы оценки микробиологической

активности дополняют экотоксикологические исследования, обеспечивая комплексный анализ биодоступности загрязнителей и их кумулятивного воздействия.

Выводы к главе 2

1. Биологическая составляющая грунтов играет ключевую роль в поддержании экологического баланса и функционировании грунтовых систем, при этом наибольшее влияние на структуру и свойства грунтов оказывают микроорганизмы (бактерии, цианобактерии, низшие грибы и простейшие). Особое значение имеют бактерии, обладающие разнообразными формами питания и спецификой приуроченности к определенным типам пород, а также грибы, способствующие разложению органических веществ. В совокупности с высшими растениями они формируют основу биотического взаимодействия, определяющего химический состав и структуру грунтов, что делает их неотъемлемой частью при проведении экотоксикологических исследований.
2. Численность и биомасса биотической составляющей грунтов напрямую зависят от пористости и типа пород, при этом наибольшая концентрация организмов наблюдается в рыхлых, пористых грунтах, таких как почвы и песчано-глинистые грунты. Микроорганизмы, несмотря на относительно небольшую долю от общей биомассы в грунтах, оказывают значительное влияние на их состав и свойства благодаря своей высокой численности и способности проникать в глубокие горизонты. Особое значение имеют симбиотические отношения между растениями, микроорганизмами и грибами, такие как образование микоризы, которые способствуют обогащению грунтов различными веществами.
3. Биотическая составляющая играет ключевую роль в формировании состава, структуры, состояния и свойств грунтов и должна рассматриваться в эколого-геологических исследованиях и при инженерно-экологических изысканиях наряду с другими компонентами. Её изучение позволяет не только оценить степень загрязнения, но и прогнозировать долгосрочные последствия для экосистем и человека.
4. Микробиологическая составляющая грунтов является одним из ключевых индикаторов их экологического состояния, отражающая как краткосрочные, так и хронические эффекты антропогенного воздействия. Чувствительность микроорганизмов к загрязнению позволяет выявлять ранние признаки токсичности, которые могут оставаться незамеченными при традиционных химических анализах. Методы оценки микробиологической активности дополняют экотоксикологические исследования, обеспечивая комплексный анализ биодоступности загрязнителей и их кумулятивного воздействия.

Глава 3. Характеристика объектов исследования для проведения химико-аналитических и экотоксикологических исследований

3.1. Выбор и характеристика исследуемых грунтов

В качестве объекта исследований были выбраны песчаные и глинистые грунты, отобранные с территорий действующих стройплощадок в разных районах Москвы. Основной причиной данного выбора является их значительная доля от общей массы изымаемого материала при проведении земляных работ. Выбор глубин отбора (от 0,2 метра до 17,5 метров) происходил на основе информации из технического задания заказчиков и разработанных программ инженерно-экологических изысканий, в которых подробно описывается глубины выработок и «воздействия» на грунтовый массив. Согласно этим данным, грунты с данных глубин могут быть в дальнейшем отнесены к категории отходы.

В качестве контрольного грунта был выбран референтный грунт, состоящий на 70% из чистого кварцевого песка и на 30% каолиновой глины от общей массы, приготовление которого с применением данных концентраций было обусловлено анализом имеющихся данных об откликах высших растений на загрязнение при разном соотношении составляющих референтного грунта, а также на основе ГОСТ Р ИСО 18763—2019 (Григорьева, 2009). С целью проверки значимости использования исходного материала для контрольного (референтного) грунта, были выбраны три вида кварцевого песка. Для каждого из них определялся химический, минеральный состав и ряд показателей свойств (приложение 1).

Песок с Люберецкого горно-обогатительного комбината (Московская область) отобран из позднеюрских отложений мощностью вскрышных пород 0,3–22,6 м (обычно 5–8 м). Он представлен мелко-среднезернистыми кварцевыми песками с примесью полевых шпатов и слюд, имеющими желтый оттенок (рисунок 13, а).

Песок из карьера «Мураевня» (Рязанская область) относится к валдайскому оледенению, с вскрышной мощностью 8–15 м. Отложения включают флювиогляциальные и аллювиальные пески с высокой сортировкой ($Cu=2.1$), преобладанием фракции 0,25–0,5 мм и содержанием кварца (88–95%), полевых шпатов (5–8%) и акцессорных минералов (турмалин, циркон, магнетит). Грунт светло-коричневого цвета (рисунок 13, б) описан в работе «Песчаные грунты...» (2021).

Песок с карьера «Гора Хрустальная» (Свердловская область) получен из кварцевых жил позднеюрского периода, мощность вскрыши 10–20 м. Характеризуется высокой сортировкой ($Cu=1.4$), преобладанием частиц 0,1–0,5 мм (80–85%), почти мономинеральным составом (кварц 95–98%) и белым или серовато-белым цветом (рисунок 13, в).



Рисунок 13. Используемые пески: а - Люберецкого горно-обогатительного комбината; б - карьера «Мураевня», Рязанская область; в - карьера «Гора Хрустальная», Свердловская область (*фото — Садов Сергей*)

В качестве добавки каолинита использовалась чистая отмытая каолиновая глина с содержанием данного минерала не менее 98% и размером фракции $<0,1$ (рисунок 14).



Рисунок 14. Применяемая при приготовлении контрольных грунтов каолиновая глина (*фото — Садов Сергей*)

После приготовления референтных грунтов, в качестве контроля определялся их минеральный и гранулометрический состав (таблица 3).

Таблица 3

Минеральный и гранулометрический состав приготовленных референтных грунтов

Место отбора кварцевого песка	Территория Люберецкого горно-обогатительного комбината, г. Москва	Карьер «Мураевня», Рязанская обл.	Карьер «Гора Хрустальная», Свердловская обл.	
Условное наименование референтного грунта	«Люберецкий»	«Рязанский»	«Свердловский»	
Минеральный состав, содержание, %				
Иллит	1.9	2.2	1.6	
Каолинит	38.7	36.4	35.3	
Кварц	59.4	61.4	63.1	
Хлорит	-	-	-	
Плагиоклаз	-	-	-	
КПШ	-	-	-	
Активолит	-	-	-	
Кальцит	-	-	-	
Пирит	-	-	-	
Доломит	-	-	-	
Гранулометрический состав, содержание, %				
Фракции, мм	<0,1	30	32	31
	0,25-0,10	26	1	0
	0,5-0,25	44	30	64
	1-0,5	0	37	5
	2-1	0	0	0
	5-2	0	0	0
	10-5	0	0	0
	>10	0	0	0

Далее, все отобранные для исследования и подготовленные для использования в качестве контроля референтные грунты классифицировались (таблица 5) согласно «ГОСТ 25100-2011 Грунты. Классификация». Для этого определялся их гранулометрический состав ситовым методом, а для глинистых грунтов так же определялось число пластичности и показатель текучести согласно ГОСТ 5180-2015 «Грунты. Методы лабораторного определения физических характеристик».

Для каждого исследуемого грунта проводился анализ химического и минерального состава (таблица 4) при помощи специализированного оборудования и в соответствии с регламентированными нормативами (таблица 6)

Таблица 4

Элементный состав исследуемых грунтов

Место отбора	Химический состав ⁶										Минеральный состав ⁷									
	Cd	Pb	Cu	Zn	Ni	As	Hg	Нефтепродукты	Бензапирен	pH	Иллит	Каолинит	Хлорит	Кварц	Плагиоклаз	КПШ	Активолит	Кальцит	Пирит	Доломит
Содержание, (млн ⁻¹) / pH - ед.										Содержание, %										
Бывшая территория свалки, район Москворечье-Сабурово, ЮАО, Москва	0,05	9,4	18,5	69,8	19,7	3	0,058	23	0,02	5,87	8.9	-	9.5	54.2	10.4	14.0	1.7	1.3	-	-
Территория строительства улично-дорожной сети, район Восточное Дегунино, САО, Москва	0,05	5,5	20,8	30,2	11,3	2,6	0,046	693	0,055	5,88	4.3	-	-	64.3	4.2	5.2	-	22.0	-	-
Территория строительства линий московского метрополитена, район Коммунарка, НАО, Москва	0,05	9	27,7	29,7	9,6	2,3	0,181	47	0,08	6,02	1.4	-	0.5	81.0	7.4	7.1	1.1	1.5	-	-
Бывшая территория автомобилестроительного предприятия, Даниловский район, ЮАО, Москва	0,05	442,5	103,1	145,5	17,7	3,9	0,663	153	2	5,99	1.5	-	1.1	81.3	8.4	5.0	-	1.7	следы	1.0

⁶ Определение химического состава проводилось в испытательном центре (ИЦ) компании ООО «Институт «Мосинжпроект»»

⁷ Определение минерального состава проводилось в лаборатории грунтоведения и технической мелиорации грунтов кафедры Инженерной и экологической геологии, инженером 1 категории Гараниной С.А., анализ и расчет проводился вед. инж. С.В. Закусиным. Рентгенодифракционный количественный анализ проводился при помощи рентгеновского дифрактометра Ultima-IV фирмы Rigaku (Япония), приобретенного за счет средств развития Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова. Сам количественный анализ осуществлялся методом полнопрофильной обработки рентгеновских картин от неориентированных препаратов по методу Хьюго М. Ритвельда. Погрешность расчетов количественных содержаний по данному методу обычно оценивается в 2-3%.

Таблица 5

Показатели состава, свойств и наименование исследуемых грунтов по государственным нормативам

Место отбора	Гранулометрический состав, содержание, %								Показатели состава и свойств пород						Наименование по ГОСТ 25100		
	Фракции, мм																
	<0,1	0,25-0,10	0,5-0,25	1-0,5	2-1	5-2	10-5	10	W_e д. ед.	ρ_s г/см ³	W_p д. ед	W_l д. ед	I_p д. ед	I_L д. ед			
Бывшая территория свалки, район Москворечье-Сабурово, ЮАО, Москва	93	6	1	-	-	-	-	-	0,279	2,7	0,254	0,159	0,095	0,263	Суглинок пылеватый легкий тугопластичный		
Территория строительства улично-дорожной сети, район Восточное Дегунино, САО, Москва	54	19	9	18	-	-	-	-	0,169	2,69	0,163	0,122	0,041	0,146	Супесь пылеватая пластичная		
Территория строительства линий московского метрополитена, район Коммунарка, НАО, Москва	9	7	41	33	4	2	1	3	0,127	2,64	-	-	-	-	Песок средний неоднородный		
Бывшая территория автомобилестроительного предприятия, Даниловский район, ЮАО, Москва	9	19	54	18	-	-	-	-	0,146	2,65	-	-	-	-	Песок мелкий неоднородный		

Перечень применяемого оборудования

Анализатор атомно-абсорбционный «Квант-2АТ»	М-МВИ-80-2008, п. 4, кроме пп. 4.7; «Методика выполнения измерений массовой доли элементов в пробах почв, грунтов и донных отложениях методами атомно-эмиссионной и атомно-абсорбционной спектрометрии»
Спектрометр атомно-абсорбционный МГА-1000	М-МВИ-80-2008, п. 5, кроме пп. 5.7; «Методика выполнения измерений массовой доли элементов в пробах почв, грунтов и донных отложениях методами атомно-эмиссионной и атомно-абсорбционной спектрометрии»
Анализатор жидкости «Флюорат-02»	ПНД Ф 16.1:2.21-98, кроме абзаца 2 п. 1; «Количественный химический анализ почв и отходов. Методика измерений массовой доли нефтепродуктов в пробах почв и грунтов флуориметрическим методом на анализаторе жидкости "Флюорат-02" (М 03-03-2012)»
Хроматограф жидкостной «Люмахром» с флюориметрическим детектором	ПНД Ф 16.1:2.2:2.3:3.39-2003, кроме п. 8.1; «Количественный химический анализ почв. Методика измерений массовой доли бенз(а)пирена в пробах почв, грунтов, твердых отходов, донных отложений, осадках сточных вод методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектированием с использованием жидкостного хроматографа "Люмахром" (Издание 2012 года)»
pH-метр pH-150МИ	ГОСТ 26483-85 «Почвы. Приготовление солевой вытяжки и определение ее pH по методу ЦИНАО»

Таким образом, в экспериментальных исследованиях использовались 4 различных вида грунтов, отобранных с территорий действующих стройплощадок в пределах города Москвы. Для каждого исследуемого образца проводилось определение химического, минерального и гранулометрического состава, а также ряда свойств. По их результатам, наиболее загрязненным грунтом оказался песок мелкий неоднородный, отобранный с территории бывшего автомобилестроительного предприятия. В пробах данного грунта отмечалось 10-кратное превышение ПДК/ОДК для бензапирена, 3-х кратное превышение нормы для свинца (*Pb*) и превышение фонового содержания для меди (*Cu*) и цинка (*Zn*). Аналогичное превышение фонового содержания отмечалось в образцах супеси пылеватой пластичной (место отбора - территория строительства улично-дорожной сети), в отношении меди (*Cu*) и ртути (*Hg*), и в образцах суглинка пылеватого легкого тугопластичного (место отбора - бывшая территория свалки), в отношении цинка (*Zn*).

Для приготовления контрольного (референтного) грунта, а также с целью проверки значимости исходного материала для сравнения результатов при проведении экотоксикологических исследований, использовались чистые кварцевые пески, принадлежащие разным стратиграфическим и генетическим типам отложений. Все используемые пески характеризуются однородностью гранулометрического и минерального состава, преобладающим минералом является кварц (SiO_2), химический состав, определенный по содержанию основных оксидов, соответствует преобладанию в их составе диоксида кремния.

3.2. Выбор и характеристика применяемых тест-культур высших растений

Выбор тест-культур для определения класса опасности грунтов основывается на их способности служить индикаторами фитотоксичности, чувствительности к широкому спектру загрязнителей и соответствии международным и национальным стандартизованным методам. Ключевыми критериями отбора являются стандартизация методик (наличие утверждённых протоколов в ГОСТ, ISO, OECD (2006)); репрезентативность реакции на различные типы загрязнений (тяжёлые металлы, нефтепродукты, пестициды) и время прорастания, позволяющая проводить экспресс-оценку в лабораторных условиях.

Использование растений из разных семейств (*Brassicaceae*, *Poaceae*) минимизирует риск ложных выводов за счёт учёта видовой специфики метаболизма (Битюцкий, 2014). Например, кress-салат (*Lepidium sativum*) и горчица белая (*Sinapis alba*), относящиеся к *Brassicaceae*, обладают повышенной чувствительностью к ионам металлов благодаря аккумуляции глюкозинолатов, в то время как сорго (*Sorghum saccharatum*) эффективно выявляет фитотоксичность гербицидов и засоления.

Применение данных культур регламентировано следующими нормативами и методическими пособиями:

- ГОСТ Р ИСО 18763-2019 «Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях высших растений»;
- МР 2.1.7.2297-07 «Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности».

Выбор тест-культур основывался так же на анализе работ ряда исследователей, изучавших чувствительность семян высших растений по отношению к различного вида загрязнителям, характере анализируемого вида токсичности (Лабораторные работы..., 2017) и с учетом доступности семян. Так, например, в публикациях Czerniawska-Kusza I., с соавторами, (2006) этот эффект продемонстрирован в отношении чувствительности семян салата, сорго и горчицы на грунтах, загрязненных комплексом тяжелых металлов и нефтепродуктов, в том числе полиароматических углеводородов (ПАУ). В работах Лисовицкой К.Л., и Тереховой В.А. (2010), показано, что растения по снижению чувствительности к токсичности грунтов располагаются в следующем порядке: *Lepidium sativum* < *Sinapis alba* < *Sorghum saccharatum*.

3.2.1. Горчица белая (*Sinapis alba*)

В качестве одной из тест-культур была выбрана горчица белая (*Sinapis alba*) (рисунок 15, а). Она относится к виду однолетних травянистых растений рода *Sinapis* (Горчица) семейства

Капустные (*Brassicaceae*). Наиболее подходящие температуры для прорастания +15-25 °С. Стебли вверху разветвлены, обычно жестковолосистые или почти голые (Дорофеев, 1998).

Нижние листья лировидно-перисто-надрезные, верхняя лопасть широкоовальная, состоящая из трёх долей, боковых лопастей — 2—3 пары; верхние листья на более коротких черешках, с меньшим числом лопастей и с более острыми их очертаниями; реже нижние листья рассечены на узкие доли; все жестковолосистые, реже почти голые. Цветки бледно-жёлтые или белые, собраны в многоцветковое (25-100 цветков) кистевидное соцветие; ноготок в 1½ раза короче отгиба. Цветоножки при плоде горизонтально отклонённые, реже восходящие, 0,8-1,3 см длиной. Растение насекомо-опыляемое. Плод - стручок, заполненный мелкими, круглыми семенами светло-жёлтого цвета. Стручки прямые или изогнутые, грубые, бугорчатые, обычно покрыты жёсткими оттопыренными волосками, 2 - 4 см длиной, с плоским мечевидным носиком, равным по длине створкам или длиннее их, реже несколько короче; иногда стручки с очень короткими створками и 1 – 2 – семенные (Никитин, 1983).



Рисунок 15. Горчица белая *Sinapis alba* (а) (Планариум. URL: <https://www.plantarum.ru>) и ее семена (б) (фото — Садов Сергей)

Распространена горчица белая в Южной Европе, в Западной Азии, на севере Пакистана, в Северной Африке. Как сорное растение распространено по всей территории России, кроме северных районов, растет на полях вдоль дорог.

Растение обладает высокой адаптивностью к различным почвенным условиям, но предпочитает хорошо дренированные почвы с нейтральным рН (6,0–7,5). Оно может расти на бедных почвах, однако для достижения максимальной продуктивности требует достаточного количества азота и фосфора. Листья горчицы богаты витаминами С и К, а также минералами, такими как кальций, железо и магний (Дорофеев, 1998). Растение характеризуется быстрым ростом и способностью достигать высоты 30–100 см за 4–6 недель после посева. Цветки желтые, собраны в кистевидные соцветия, что делает растение привлекательным для опылителей. Горчица белая играет важную роль в агротехнических системах, поскольку её корневая система способствует улучшению структуры почвы и предотвращению эрозии. Кроме того, она обладает аллелопатическим эффектом, подавляя рост сорняков (Messiha, 2018).

Семена горчицы белой имеют округлую форму и диаметр около 1–2 мм (рисунок 15, б). Они окрашены в желтоватый или светло-коричневый цвет и характеризуются высокой всхожестью. Прорастание семян начинается при температуре +2–5 °C, что делает горчицу одной из самых холодостойких культур. Однако оптимальная температура для прорастания составляет +15–20 °C. При этих условиях первые проростки появляются через 3–5 дней после посева (Никитин, 1983).

На ранних этапах развития растение особенно чувствительно к стрессовым факторам, таким как недостаток воды, повышенная соленость почвы и загрязнение тяжелыми металлами. Корневая система развивается быстро: уже на 7-й день после прорастания корни достигают длины 5–7 см. Первичный корень является главным органом, отвечающим за поглощение воды и питательных веществ. Он активно ветвится, образуя вторичные корни, которые увеличивают площадь контакта с почвой (Никитин, 1983).

Проростки горчицы белой имеют два семядольных листа, которые обеспечивают начальное питание растения до тех пор, пока не разовьются настоящие листья. Первые настоящие листья появляются через 7–10 дней после прорастания. На этой стадии растение особенно уязвимо к изменениям окружающей среды, таким как дефицит света, недостаток питательных веществ и воздействие токсических веществ.

Горчица белая демонстрирует высокую чувствительность к загрязнителям, включая пестициды, тяжелые металлы (например, свинец, кадмий и медь) и органические соединения. Исследования показывают, что даже низкие концентрации загрязнителей могут вызывать задержку роста корней и снижение всхожести семян (Лисовицкая, Терехова, 2010).

Например, в отношении тяжелых металлов, культура наиболее чувствительна к свинцу (Pb), кадмию (Cd), меди (Cu) и цинку (Zn). Они нарушают ферментативную активность и метаболизм клеток, что приводит к задержке роста и снижению продуктивности.

Таким образом, горчица белая (*Sinapis A.*) двудольное однолетнее растение семейства капустные (*Brassicaceae*), имеющее широкую географию распространения. Отличается значительной интенсивностью роста и развития на ювенильной стадии, преимущественно в первые 96 часов, что определяет целесообразность ее применения для оценки острой фитотоксичности при фитотестировании.

3.2.2. Сорго сахарное (*Sorghum saccharatum*)

Другой выбранной тест-культурой было Сорго сахарное (рисунок 16, а) *Sorghum saccharatum Pers.* (более распространенное название - зерновое). Оно относится к роду *Sorghum* (*L.*, *Moench*. — сорго. Семейство Мятликовые (*Poaceae*) (Давлетшин, 1999).



Рисунок 16. Сорго сахарное (сорго зерновое), *Sorghum saccharatum* (а) (Планариум. URL: <https://www.plantarium.ru>) и его семена (б) (фото — Садов Сергей)

Однолетнее высокорослое прямостоячее растение, хорошо кустится. Наиболее подходящие температуры для прорастания +20-25 °С. Стебель светло-зеленого цвета высотой 1-3 м, внутри заполнен белой, губчатой тканью. Толщина стебля 25-30 мм. Корневая система мочковатая. От узла кущения расходятся корни в разные стороны на расстояние до 1,5 м и проникают в почву на 2-3 м. Листовая пластинка ланцетовидная, широкая 5-8 см, покрыта восковым налетом. Листья обычно пониклые, гладкие с резко выраженной главной жилкой. В сухую погоду могут скручиваться, уменьшая испаряющуюся поверхность. Соцветие — метелка длиной 10-70 см

различной формы и окраски. Перекрестно опыляющееся растение, но возможно и самоопыление. Пыльцы образуется много, переносится ветром. Плод - зерновка. Зерно овальной или яйцевидной формы, пленчатое или голое, белой, розовой, красной, желтой окраски (рисунок 16, б). К почвам сорго малотребовательно. Оно возделывается даже на засоленных почвах, которые часто встречаются в засушливых зонах (Демиденко, 1957; Щекун, 1964).

Сорго сахарное выращивают для получения сахара, корма для животных и биотоплива. Оно широко распространено в странах Африки, Южной Азии и Австралии (Давлетшин, 1999).

Сорго сахарное может расти на различных типах почв, включая песчаные и солончаковые, но предпочитает плодородные почвы с нейтральным pH (6,0–7,0). Его семена содержат до 70% крахмала, что делает их ценным источником энергии (Freeman, 1971). Растение также отличается высокой урожайностью: при благоприятных условиях оно может давать до 50–70 тонн зеленой массы на гектар.

Семена сорго сахарного имеют продолговатую форму и размер около 3–4 мм. Они окрашены в светло-коричневый или красноватый цвет и характеризуются хорошей всхожестью. Прорастание семян начинается при температуре 10–15 °C, но оптимальной считается температура 20–25 °C. При этих условиях первые проростки появляются через 4–7 дней после посева (Щекун, 1964).

На ранних этапах развития растение особенно чувствительно к дефициту воды и высоким концентрациям солей в почве. Корневая система развивается медленнее, чем у других культур, что требует особого внимания при биотестировании. Однако корни сорго способны проникать на значительную глубину, что позволяет растению эффективно использовать воду из глубоких слоев почвы. Первичный корень начинает развиваться сразу после прорастания и достигает длины 10–15 см через 10 дней (Давлетшин, 1999).

Проростки сорго сахарного имеют один семядольный лист, который обеспечивает начальное питание растения. Первые настоящие листья появляются через 7–10 дней после прорастания. На этой стадии растение особенно уязвимо к изменениям окружающей среды, таким как дефицит света, недостаток питательных веществ и воздействие токсических веществ (Щекун, 1964).

Сорго сахарное обладает относительно высокой устойчивостью к некоторым стрессовым факторам, таким как засуха и повышенная температура. Однако оно чувствительно к загрязнению почвы тяжелыми металлами и пестицидами. Сорго сахарное проявляет умеренную устойчивость к тяжелым металлам, таким как кадмий (Cd), свинец (Pb) и медь (Cu), однако при высоких концентрациях этих металлов наблюдаются значительные изменения в росте и развитии растений. Также растение чувствительно к изменениям pH почвы и дефициту микроэлементов, таких как цинк и бор (Титов, 2014).

Таким образом, сорго сахарное (*Sorghum S.*) однодольное однолетнее растение семейства злаковые (*Poaceae*), устойчивое к высоким температурам и дефициту влаги. Интенсивность роста и развития растения на ювенильной стадии несколько ниже, чем у горчицы белой, однако основные процессы формирования ключевых органов завершаются во временном промежутке от начала роста до 120 часов, что позволяет считать данную культуру подходящей для оценки острой фитотоксичности при фитотестировании.

3.2.3. Кресс-салат (*Lepidium sativum*)

Еще одним выбранным тест-растением стал кресс-салат *Lepidium sativum* - однолетнее травянистое растение (рисунок 17, а), вид рода Клоповник (*Lepidium*) семейства Капустные, или Крестоцветные (*Brassicaceae*).



а

б

Рисунок 17. Кресс-салат *Lepidium sativum* (а) (Планариум. URL: <https://www.planarium.ru>) и его семена (б) (фото — Садов Сергей)

Травянистое растение высотой 30—60 см. Наиболее подходящие температуры для прорастания +15-25 °С. Стебель в верхней части разветвленный. Прикорневые листья перисторассеченные, с черешками; стеблевые — цельные, сидячие; все листья имеют зелено-синий цвет. Цветки мелкие, собраны в рыхлые соцветия-кисти. В каждом цветке 4 зеленых чашелистика, 4 белых лепестка длиной до 3 мм, 6 тычинок, 2 из них короче остальных, и пестик с верхней завязью и коротким столбиком. Плоды клоповника посевного — округло-ovalные

крылатые стручочки длиной 5—6 мм и шириной около 4 мм. Семена мелкие, яйцевидные, темно-рыжего цвета (рисунок 17, б) (Ларин и др., 1951; Eddouks, 2005).

Оно широко используется как пищевая культура благодаря высокому содержанию витаминов и минералов. Кресс-салат обладает быстрым циклом развития, что делает его удобным объектом для исследований. Растение предпочитает влажные и плодородные почвы, но может расти и на менее благоприятных участках.

Кресс-салат широко распространен в умеренных и субтропических регионах мира, особенно в Европе, Азии и Северной Африке. Он часто выращивается в домашних условиях благодаря простоте ухода и быстрому росту. Листья кресс-салата богаты витаминами A, C и K, а также минералами, такими как калий, магний и железо (Титов, 2014).

Кресс-салат играет важную роль в пищевой и фармацевтической промышленности благодаря своим антиоксидантным и противовоспалительным свойствам. Кроме того, он используется в экологических исследованиях как модельный организм для оценки токсичности загрязнителей (Лисовицкая, Терехова, 2010).

Семена кресс-салата имеют мелкую округлую форму и диаметр около 1 мм (рисунок 17, а). Они окрашены в светло-коричневый цвет и характеризуются высокой всхожестью. Прорастание семян начинается при температуре +5–10 °C, но оптимальной считается температура +15–20 °C. При этих условиях первые проростки появляются через 2–3 дня после посева.

На ранних этапах развития растение особенно чувствительно к изменениям pH почвы и наличию токсических веществ. Корневая система развивается быстро: уже на 7-й день после прорастания корни достигают длины 8–10 см. Первичный корень является главным органом, отвечающим за поглощение воды и питательных веществ. Он активно ветвится, образуя вторичные корни, которые увеличивают площадь контакта с почвой (Титов, 2014).

Проростки кресс-салата имеют два семядольных листа, которые обеспечивают начальное питание растения до тех пор, пока не разовьются настоящие листья. Первые настоящие листья появляются через 5–7 дней после прорастания. На этой стадии растение особенно уязвимо к изменениям окружающей среды, таким как дефицит света, недостаток питательных веществ и воздействие поллютантов (Лисовицкая, Терехова, 2010).

*Таким образом, кресс-салат (*Lepidium sativum*) — однолетнее травянистое растение семейства Капустные (*Brassicaceae*), отличающееся коротким жизненным циклом и высокой скоростью прорастания семян (2–3 дня при температуре +15–20°C). Чувствительность к pH почвы, наличию токсических веществ и дефициту питательных веществ, а также стандартизованные параметры оценки (всхожесть, длина корней, биомасса) позволяют использовать кресс-салат для экспресс-анализа острой фитотоксичности. Благодаря высокой адаптивности к различным почвенным условиям и соответствию международным методикам,*

данная культура является универсальным модельным объектом для оценки загрязнителей в рамках экотоксикологических исследований.

3.3. Выбор и характеристика используемых тест-тест-культур гидробионтов

Выбор применяемых при проведении биотестирования эллюатными методами тест-объектов основывался на ранее проведенном анализе ряда научных публикаций и действующих нормативах:

- ФР.1.39.2007.03222 «Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний»;
- 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».

3.3.1 Рачки *Daphnia magna*

Рачки *Daphnia magna* (рисунок 18) (дафнии) принадлежат к классу Branchiopoda, отряду Cladocera и семейству Daphniidae. Они являются микроскопическими пресноводными ракообразными, широко распространенными в умеренных и субтропических регионах мира. Дафнии обитают в стоячих или слабопроточных водоемах, таких как озера, пруды, болота и временные лужи (Константинов, 1986).

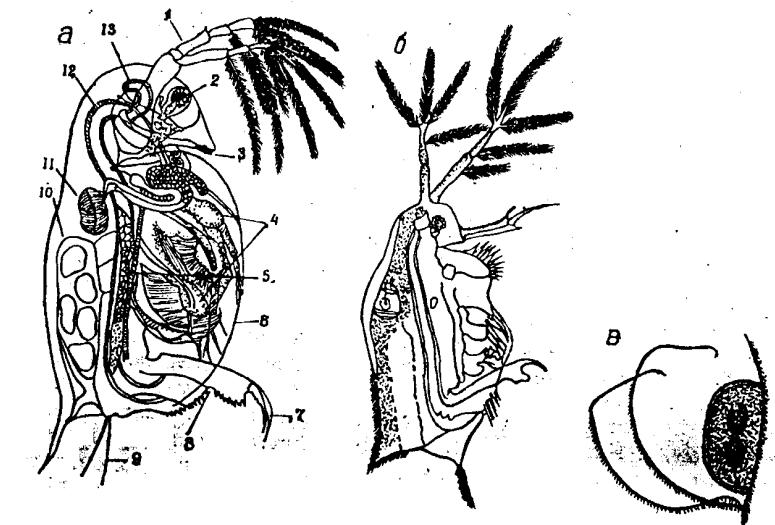


Рисунок 18. Строение *Daphnia magna* Straus²: а - самка: 1 - антенна, 2 - сложный глаз, 3 - антеннула, 4 - грудные ножки, 5 - яичник, 6 - створки панциря, 7 - каудальные когти, 8 - постабдомен, 9 - хвостовые щетинки, 10 - выводковая камера, 11 - сердце, 12 - кишечник, 13 - печеночные выросты; б - самец; в - внешний вид эфиппиума

Рост дафний связан с периодическими линьками: первые три - ювенильные - следуют через 20, 24, 36 часов, четвертая - созревание яиц в яичнике и пятая - откладывание яиц в выводковую камеру - следуют с интервалом 2-3 суток, начиная с шестой, каждая линька сопровождается откладыванием яиц. При наличии обильного количества питательных веществ размеры молодых дафний после каждой линьки удваиваются. С момента рождения до наступления половой зрелости рост замедляется. Молодь раков в длину 0,7-0,9 мм, к моменту половой зрелости самки достигают 2,2-2,4 мм, самцы 2,0-2,1 мм (Константинов, 1986). Максимальная длина тела самок может достигать 6,0 мм при сыром весе 7-10 мг. При благоприятных условиях дафния дает пометы, следующие друг за другом через двое суток. Большую часть года дафнии размножаются партегногенетически (развитие яйцеклетки во взрослый организм без оплодотворения), производя потомство, состоящее преимущественно из самок. Наступление неблагоприятных условий вызывает переход к половому размножению: в популяции раков появляются самцы и самки с гамогенетическими яйцами. После оплодотворения диплоидные «зимние яйца» откладываются в эфиппиум, образованном из части створок панциря. Эфиппиумы сбрасываются на дно водоема или прикрепляются к различным субстратам. При возобновлении благоприятных условий из эфиппиумов вновь появляются самки, переходящие к партеногенетическому размножению.

Источником питания дафний в природных водоемах являются бактерии, одноклеточные водоросли, детрит, растворенные органические вещества. Интенсивность потребления корма зависит от его характера, концентрации в среде, температуры, возраста раков и т. д. Скопление пищи в желобе свидетельствует о неблагополучии в питании дафний, как и в случае, когда «сито» забито взвесью. Чрезмерно высокое содержание кормовых частиц снижает активность питания дафний, и они могут погибнуть вследствие засорения пищевого аппарата. *Daphnia magna* является типичным бетамезосапробом, перенося осолонение до 6%. Оптимальное содержание кислорода для дафний составляет 7-8 мг/л, однако ракок способен переносить снижение концентрации O_2 до 2 мг/л, что связано с их способностью синтезировать гемоглобин (Константинов, 1986). Повышение содержания гемоглобина в крови дафний отмечено при понижении концентрации растворенного кислорода. В этом случае ракки приобретают красноватый цвет вместо розовато-желтого при благоприятных условиях. Оптимальные значения активной реакции среды pH составляют 7,0-8,0, однако временные изменения pH в пределах 5,8-9,0 не подавляют существенным образом жизнедеятельность дафний (Федосеева, 2014; Федосеева, Терехова, 2016).

При проведении токсикологических экспериментов необходимо поддерживать непрерывное партеногенетическое размножение раков, учитывая особенности биологического цикла развития (Федосеева, Терехова, 2016).

Таким образом, *Daphnia magna* — пресноводные ракообразные с коротким жизненным циклом (половозрелость за 7–9 суток при +20°C) и высокой репродуктивной активностью (помет каждые 2–3 дня). Их чувствительность к изменениям кислорода (переносят 2 мг/л), pH (5.8–9.0), солёности (до 6%) и наличию различных видов поллютантов делают их ключевыми биоиндикаторами токсичности водных сред.

3.3.2. Зеленые протококковые водоросли *Scenedesmus quadricauda*

Вид зеленых протококковых водорослей *Scenedesmus quadricauda* (Turp) Breb., относится к отделу *Chlorophyta*, классу *Protococcophyceae*, семейству *Scenedesmaceae* (Константинов, 1986).

Данный вид относится к ценобиальным организмам, у которых размножение происходит путем образования внутри материнской клетки 2-х, 4-х, реже 8- и 16-клеточных ценобиев. Ценобии — это смыкание одноклеточных водорослей в колонию из клеток одной и той же генерации, одно рядные в виде плоских пластинок. Клетки удлиненно — овальные, с закругленными концами, одноядерные Краевые клетки ценобия каждая с двумя длинными шипами на концах (рисунок 19), оболочка гладкая. Размеры клеток (7-43) к (2,5-16) мкм. Размножение автоспорами, иногда (особенно в условиях культивирования водорослей) вместо ценобиев образуются отдельные клетки. Вид широко распространен в разнообразных биотопах, главным образом в планктоне пресных водоемов, часто независимо от климата (Константинов, 1986).

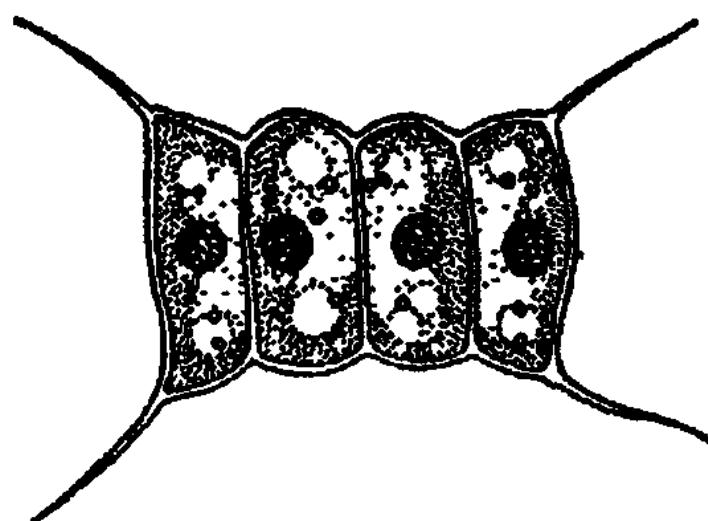


Рисунок 19. *Scenedesmus quadricauda* (Turp) Breb., 4-х клеточный ценобий³

Водоросль играет ключевую роль в экосистемах как продуцент кислорода и участник круговорота углерода и азота. Её способность быстро размножаться и адаптироваться к различным условиям делает её важным объектом для изучения антропогенного воздействия на водные среды (Федосеева, Терехова, 2016).

Жизненный цикл *Scenedesmus quadricauda* начинается с прорастания зооспор или вегетативных клеток, которые в благоприятных условиях (температура +22–25 °C, pH 6,5–8,0, освещенность 3000–10000 люкс) активно делятся, формируя колонии. Рост культуры характеризуется экспоненциальной фазой, достигающей пика через 3–5 дней при оптимальных параметрах среды. На ранних стадиях водоросль особенно чувствительна к дефициту света, низким температурам и загрязнителям, что делает её удобной моделью для оценки токсичности (Константинов, 1986). Культивирование обычно проводится в жидких средах, таких как «BG-11» или «Тамия», с контролем концентрации нитратов и фосфатов. При этом её способность к фотосинтезу и быстрому накоплению биомассы позволяет использовать её в лабораторных экспериментах для изучения острой и хронической токсичности (Larkum, 2020).

Scenedesmus quadricauda демонстрирует высокую чувствительность к химическим загрязнителям, включая тяжелые металлы (например, Cd, Pb, Cu), пестициды и органические соединения. Исследования показывают, что концентрации меди до 0,1 мг/л могут снижать скорость роста колоний на 40–60%, а наличие кадмия способно вызывать деформацию клеток и нарушение фотосинтетической активности (Wang, 2007). Водоросль также реагирует на изменения pH: при снижении до 5,0 или повышении до 9,0 наблюдается угнетение метаболизма и разрушение хлорофилла. Кроме того, высокая температура (выше 30 °C) и солевой стресс (концентрация NaCl > 1 г/л) подавляют её репродуктивную активность (Ахметкерим, 2023; Пискунова, 1970). Эти особенности делают её индикатором экологического состояния водоемов и грунтовых вытяжек.

Scenedesmus quadricauda активно используется в экотоксикологических исследованиях в странах Европейского Союза, США и Китае. В ЕС её применение регламентируется стандартом ISO 8692:2012, который описывает методы оценки токсичности водной среды с использованием пресноводных водорослей (ISO 8692:2012, 2012). В США водоросль включена в протоколы Агентства по охране окружающей среды (EPA) для тестирования сточных вод и промышленных отходов. В России применяется для оценки острой токсичности (по ингибиции роста биомассы) и хронической токсичности (по нарушению фотосинтеза).

Таким образом, *Scenedesmus quadricauda* — зелёная водоросль, играющая ключевую роль в водных экосистемах как продуцент кислорода и участник биогеохимических циклов. Её способность к быстрому размножению (формирование 2–16-клеточных колоний за 3–5 дней при +22–25°C) и высокая чувствительность к изменениям среды делают её ценным объектом для

оценки токсичности. Вид демонстрирует выраженную реакцию на загрязнители: тяжёлые металлы (например, Cu, Cd), при этом пестициды и органические соединения угнетают рост, фотосинтез и структуру клеток даже в низких концентрациях.

Выводы к главе 3

1. В экспериментальных исследованиях использовались 4 различных вида грунтов, отобранных с территорий действующих стройплощадок в пределах города Москвы. Для каждого исследуемого образца проводилось определение химического, минерального и гранулометрического состава, а также ряда свойств. По их результатам, наиболее загрязненным грунтом оказался песок мелкий неоднородный, отобранный с территории бывшего автомобилестроительного предприятия. В пробах данного грунта отмечалось 10-кратное превышение ПДК/ОДК для бензапирена, 3-х кратное превышение нормы для свинца (Pb) и превышение фонового содержания для меди (Cu) и цинка (Zn). Аналогичное превышение фонового содержания отмечалось в образцах супеси пылеватой пластичной (место отбора - территория строительства улично-дорожной сети), в отношении меди (Cu) и ртути (Hg), и в образцах суглинка пылеватого легкого тугопластичного (место отбора - бывшая территория свалки), в отношении цинка (Zn).
2. Для приготовления контрольного (референтного) грунта, а также с целью проверки значимости исходного материала для сравнения результатов при проведении экотоксикологических исследований, использовались чистые кварцевые пески, принадлежащие разным стратиграфическим и генетическим типам отложений. Все используемые пески характеризуются однородностью гранулометрического и минерального состава, преобладающим минералом является кварц (SiO_2), химический состав, определенный по содержанию основных оксидов, соответствует преобладанию в их составе диоксида кремния.
3. Горчица белая (*Sinapis A.*) двудольное однолетнее растение семейства капустные (*Brassicaceae*), имеющее широкую географию распространения. Отличается значительной интенсивностью роста и развития на ювенильной стадии, преимущественно в первые 96 часов, что определяет целесообразность ее применения для оценки острой фитотоксичности при фитотестировании.
4. Сорго сахарное (*Sorghum S.*) однодольное однолетнее растение семейства злаковые (*Poaceae*), устойчивое к высоким температурам и дефициту влаги. Интенсивность роста и развития растения на ювенильной стадии несколько ниже, чем у горчицы белой, однако основные процессы формирования ключевых органов завершаются во временном промежутке от начала роста до 120 часов, что позволяет считать данную культуру подходящей для оценки острой фитотоксичности при фитотестировании.

5. Кресс-салат (*Lepidium sativum*) — однолетнее травянистое растение семейства Капустные (*Brassicaceae*), отличающееся коротким жизненным циклом и высокой скоростью прорастания семян (2–3 дня при температуре +15–20°C). Чувствительность к pH почвы, наличию токсических веществ и дефициту питательных веществ, а также стандартизированные параметры оценки (всходесть, длина корней, биомасса) позволяют использовать кресс-салат для экспресс-анализа острой фитотоксичности. Благодаря высокой адаптивности к различным почвенным условиям и соответствуя международным методикам, данная культура является универсальным модельным объектом для оценки загрязнителей в рамках экотоксикологических исследований.

6. *Daphnia magna* — пресноводные ракообразные с коротким жизненным циклом (половозрелость за 7–9 суток при +20°C) и высокой репродуктивной активностью (помет каждые 2–3 дня). Их чувствительность к изменениям кислорода (переносят 2 мг/л), pH (5.8–9.0), солёности (до 6‰) и наличию различных видов поллютантов делают их ключевыми биоиндикаторами токсичности водных сред.

7. *Scenedesmus quadricauda* — зелёная водоросль, играющая ключевую роль в водных экосистемах как продуцент кислорода и участник биогеохимических циклов. Её способность к быстрому размножению (формирование 2–16-клеточных колоний за 3–5 дней при +22–25°C) и высокая чувствительность к изменениям среды делают её ценным объектом для оценки токсичности. Вид демонстрирует выраженную реакцию на загрязнители: тяжёлые металлы (например, Cu, Cd), при этом пестициды и органические соединения угнетают рост, фотосинтез и структуру клеток даже в низких концентрациях.

Глава 4. Методика экспериментальных исследований для обоснования класса опасности грунтов

4.1. Методика определения острой токсичности грунтов

Методы определения острой токсичности направлены на выявление негативного воздействия химических веществ, отходов или загрязнителей на живые организмы в краткосрочной перспективе, обычно в течение 24–96 часов¹. Они позволяют оценить летальные концентрации (LC50) и эффективные концентрации (EC50), которые вызывают гибель тест-объектов или угнетение их жизнедеятельности. Существует несколько подходов к проведению таких исследований, включая биотестирование с использованием водных организмов (например, раков *Daphnia magna*), высших растений и микроорганизмов. В России методические основы биотестирования регламентируются документом РД 64-085-89, который устанавливает принципы оценки токсичности и генетической опасности отходов для окружающей среды. Для тестирования токсичности на растениях применяется стандарт ГОСТ Р ИСО 18763—2019, который определяет влияние загрязняющих веществ на всхожесть семян и рост проростков высших растений: двудольных горчицы белой (*Sinapis alba*) и кress-салата (*Lepidium sativum*) и однодольного сорго двухцветного или сахарного (*Sorghum saccharatum*). Согласно методике, обязательно проводится расчёт эффекта токсичности, который характеризует негативное воздействие химических веществ, физических факторов или биологических агентов на живые организмы и проявляется в нарушении их нормального функционирования, роста, размножения или выживания. Этот эффект может быть вызван как острым, так и хроническим воздействием загрязнителей и зависит от концентрации, времени экспозиции, природы токсиканта и чувствительности тест-объекта.

Расчет эффекта токсичности (ЭТ) проводится согласно ГОСТ Р ИСО 18763-2019 «Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях высших растений» по следующей формуле:

$$\mathcal{E}T_i = \frac{x_{i \text{ проба}} - x_{i \text{ контроль}}}{x_{i \text{ контроль}}} \times 100,$$

где x_i – проба, x_i контроль – среднее арифметическое значение i -ого тест-параметра (длина корня, ростка, см) в исследуемом образце и контроле, соответственно.

Таким образом, современная система определения класса опасности отходов в России, основанная на анализе химического состава и расчёте показателя Zc, сталкивается с рядом проблем: неточность пробоотбора грунтов, субъективность учёта компонентов и риск

занижения класса опасности из-за методологических ограничений. Для устранения этих недостатков предложена усовершенствованная модель, в которой приоритет отдается экотоксикологическим исследованиям, предшествующим химическому анализу. Это позволяет выявить хроническую токсичность через оценку микробиологической активности грунтов, а также дополнить (а в некоторых случаях заменить) традиционное биотестирование на гидробионтах аппликатным фитотестированием с применением высших растений по ГОСТ Р ИСО 18763—2019. Последний метод, основанный на прямом контакте тест-культур с грунтом, повышает точность за счёт исключения погрешностей, связанных с неполным переходом токсикантов в водную вытяжку.

4.1.1 Планшетное аппликатное фитотестирование грунтов

Существует два принципиально разных подхода к биотестированию с использованием высших растений: элюатный и аппликатный. Первый предполагает приготовление водной вытяжки из анализируемых проб грунта, которая затем используется как субстрат для проращивания семян тест-культур. Второй метод основан на использовании непосредственно грунта в качестве субстрата для роста и развития растений. На сегодняшний день в экотоксикологических исследованиях чаще применяются методы, основанные на использовании водной вытяжки, однако на основании результатов ранее проведенных исследований (Григорьева, Садов, 2019; Григорьева и др., 2019; Садов, Григорьева, 2023) нами был сделан вывод, что подобный подход не всегда оправдан. С эколого-геологической точки зрения такой подход не позволяет учитывать влияние физических и физико-химических взаимодействий, происходящих в грунте, а также его биотических свойств, что ограничивает оценку биологической значимости уровня и состава загрязнения.

В связи с этим, в настоящем исследовании был выбран аппликатный метод фитотестирования. Методика проведения исследований была основана на существующем нормативном документе ГОСТ Р ИСО 18763—2019 «Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях высших растений» и учитывала опыта предыдущих экспериментальных исследований авторского коллектива (Григорьева, Садов, 2019; Григорьева и др., 2019).

Перед началом работы была оценена всхожесть семян тест-культур, которая составила 98% для горчицы белой и 96% для сорго сахарного, что соответствует установленным требованиям. Для обеспечения стерильности все используемое оборудование и планшеты подвергались обязательной дезинфекции.

Сначала, анализируемый грунт, объемом в 90 см³, при необходимости, растирался до однородного состояния, а затем увлажнялся дистиллированной водой до пастообразного состояния (около 60% от полной влагоемкости). Затем он равномерно распределялся в нижней камере специализированного планшета (рисунок 20), а семена тест-культур размещались на фильтровальной бумаге, помещенной на поверхность исследуемого субстрата, на расстоянии 1 см от верхней границы субстрата на равном удалении друг от друга (по 10 семян на планшет).

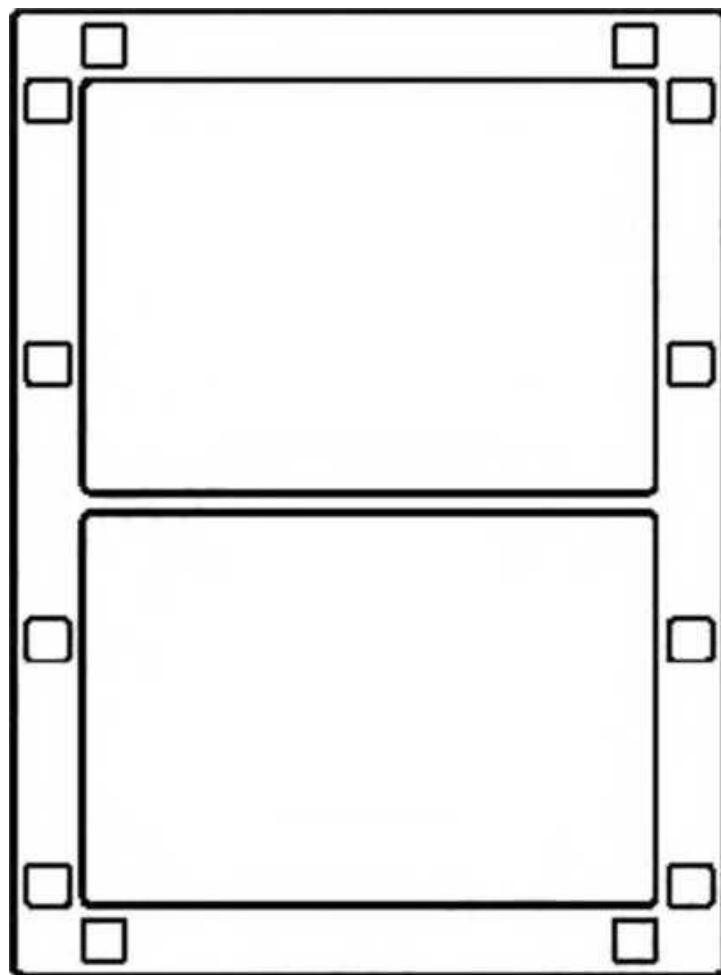


Рисунок 20. Планшет для фитотестирования с боковыми углублениями для плотного закрытия (ГОСТ Р ИСО 18763—2019)

Учитывая особенности грунта, как объекта исследования в процессе эксперимента тестировалось два способа укладки семян тест-растений: с применением фильтровальной бумаги (согласно нормативу) (рисунок 21а, 22а), и с непосредственным контактом семени с грунтом (рисунок 21б, 22б), для обеспечения «безбарьерного» доступа к частицам грунта с возможными адсорбированными на их поверхности соединениями.

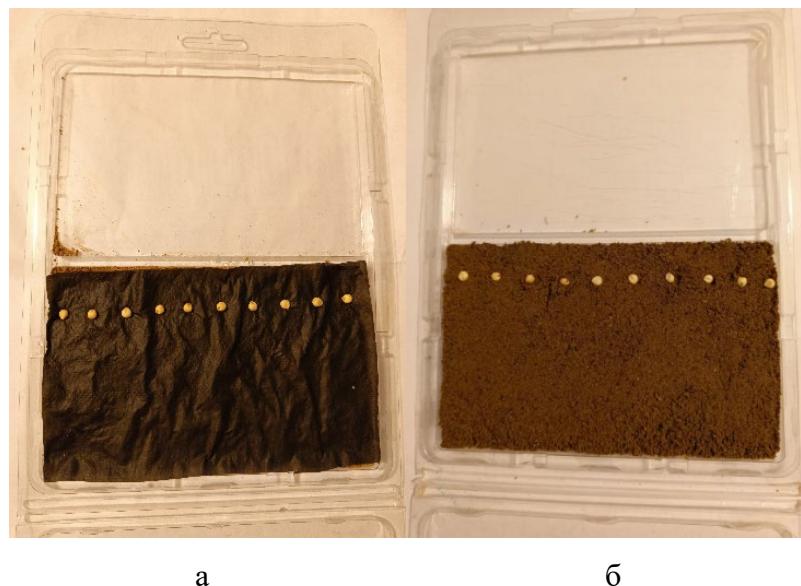


Рисунок 21. Семена сорго *Sorghum saccharatum* на суглинке пылеватом легком тугопластичном. Укладка семян: а – на фильтровальную бумагу; б – без использования фильтровальной бумаги (фото — Садов Сергей)

Таким образом, общее число планшетов с грунтом составило 252 единиц (144 для тестируемых образцов и 108 для референтных грунтов). Всего было высажено 2720 семян: 2520 на тестируемые образцы и по 100 на каждую тест-культуру для контроля всхожести. В качестве контроля выступали искусственно приготовленные референтные грунты (рисунок 22).

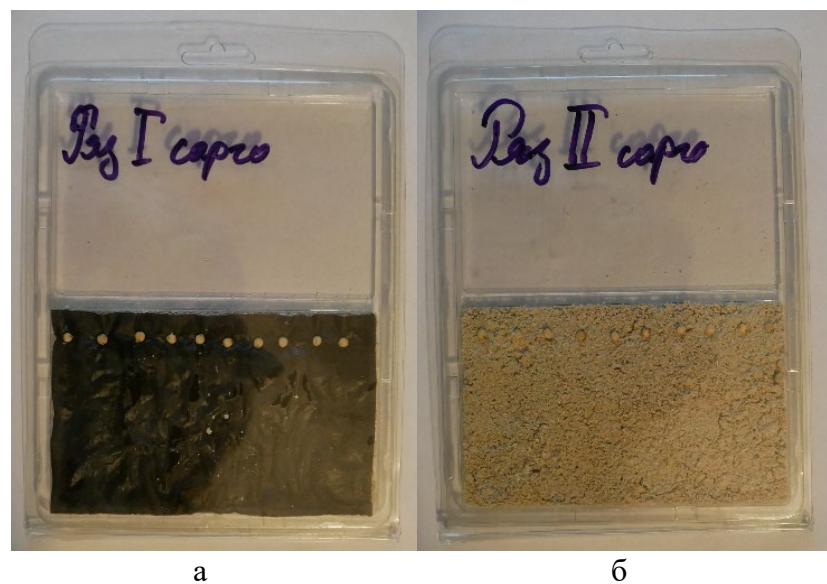


Рисунок 22. Тест-культура сорго *Sorghum saccharatum* на референтном грунте «Рязанский». Укладка семян: а – на фильтровальную бумагу; б – без использования фильтровальной бумаги (фото — Садов Сергей)

Подготовленные планшеты подписывались с указанием номера пробы и повторности, после чего помещались в климатостат в горизонтальном положении при температуре $+22 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Через 24 часа после начала экспозиции планшеты переворачивались в вертикальное положение. Общая продолжительность эксперимента составляла 96 часов, по истечении которых проводились измерения тест-параметров: всхожесть, длина корня и длина ростка, затем проводилась статистическая обработка полученных результатов.

Также с целью ускорения и упрощения процесса измерения итоговых морфометрических показателей (длина корня и длина ростка) проросших семян используемых тест-культур применялись полуавтоматические методы анализа изображений (рисунок 23).

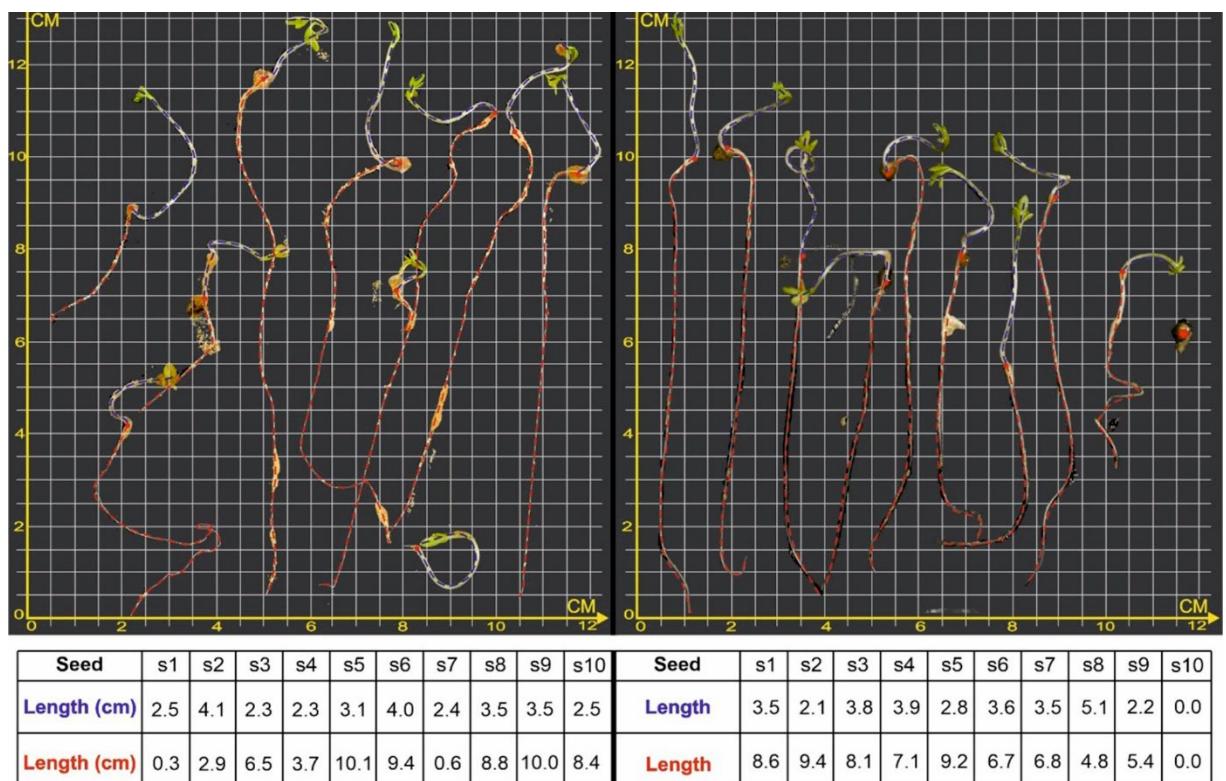


Рисунок 23. Примеры измерения морфометрических параметров (длина корня; длина ростка) семян тест-культур с применением полуавтоматического метода

Таким образом, аппликатный метод фитотестирования отличается наглядностью представляемых результатов, является достаточно экспрессным и при этом учитывает особенности грунта, как объекта исследований, в связи с чем его применение в рамках экотоксикологических исследований при оценке класса опасности отхода является перспективным и целесообразным с эколого-геологической точки зрения.

4.1.2 Биотестирование грунтов с применением раков

Согласно ФР.1.39.2007.03222 «Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний» биотестирование воды и водных вытяжек проводят только на синхронизированной культуре

дафний *Daphnia magna Straus*. Синхронизированной является генетически однородная одновозрастная культура, полученная от одной самки путем ациклического партеногенеза в третьем поколении. Главной причиной такого требованию является обладание схожими порогами устойчивости к токсикантам у поколения.

Для получения синхронизированной культуры отбирают одну самку средних размеров с выводковой камерой, заполненной эмбрионами, и помещают в стерильную емкость вместимостью 250 см³, заполненную культивационной водой. Появившуюся молодь переносят в кристаллизатор (25 особей на 1 дм³ воды) и культивируют. Полученная третья генерация является синхронизированной культурой и может быть использована для биотестирования в возрасте 6 - 24 часов.

Для непрерывного осуществления массовых анализов на токсичность различных сред при большом количестве проб необходимо культивирование 4 - 5 генетически однородных синхронизированных культур, отличающихся друг от друга по возрасту.

Культуру дафний выращивают в климатостате или эквивалентном приспособлении, обеспечивающем поддержание искусственного освещения лампами дневного света с интенсивностью света от 500 до 1000 лк, 16-часовой световой и 8-часовой ночной (без освещения) период; температуру ($+20 \pm 2$) °C (рисунок 24).



Рисунок 24. Используемый в эксперименте климатостат-ВЗ с контролем температуры (+19°C) (foto — Садов Сергей)

В качестве культиваторов используют чашки кристаллизационные толстостенные, или батарейные стаканы вместимостью (2 - 5) дм³, которые наполняют на 3/4 объема культивационной водой, сажают туда самок дафний среднего размера с выводковыми камерами, заполненными эмбрионами, и неплотно прикрывают культиваторы (от попадания пыли и для уменьшения испарения) пластинаами из стекла или оргстекла толщиной не менее 6 мм. Для

пересадки в культиваторы можно отобрать взрослых самок с помощью фильтрования культуры через крупное сито (размер ячеек 1800 - 2200 мкм). Маточную культуру дафний поддерживают в одном или двух сосудах. Ежедневно утром с поверхности воды в сосудах, в которых культивируются ракчи, стерильной марлевой салфеткой снимают дрожжевую и бактериальную пленку. После этого воду вместе с ракчами осторожно переливают в чистый культиватор так, чтобы накопившийся осадок остался на дне. В чистый культиватор добавляют свежую порцию культивационной воды. Таким образом, ежедневно проводят очистку поверхности воды и дна сосуда, в котором культивируются ракчи. Кормление дафний осуществляют ежедневно.

Одновременно с процессом подготовки культуры для тестирования, проводится приготовление водной вытяжки из тестируемых образцов грунта (рисунок 25).



Рисунок 25. Процесс приготовления водной вытяжки на аппарате для встряхивания жидкости «ПЭ-6410» (фото — Садов Сергей)

Затем начинается процесс определения уровня токсичности исследуемых водных вытяжек. Для этого готовят три параллельные серии проб: без разбавления, и с соотношением дистиллированной воды к субстрату 1 к 10; 1 к 100; 1 к 1000. В качестве контроля используют три параллельные серии с культивационной водой.

Биотестирование проводят в химических стаканах вместимостью 150 - 200 см³, которые заполняют 100 см³ исследуемой воды, в них помещают по десять дафний в возрасте 6 - 24 ч (рисунок 26).



Рисунок 26. Помещение раков *Daphnia magna Straus* в используемые химические стаканы с субстратом (фото — Садов Сергей)

В отдельный химический стакан отсаживают одновозрастных раков после фильтрации их через набор сит, а затем отлавливают по одному пипеткой вместимостью 2 см³ с резиновой грушей.

Дафнии могут пострадать от наличия на поверхности раствора масляных капель или пленок, к которым они прилипают, травмируются и могут погибнуть. В тех случаях, когда нельзя избежать образования таких пятен или пленок, необходимо сеткой из мельничного газа создать преграду для доступа раков к поверхности исследуемых растворов.

В экспериментах по определению острой токсичности дафний кормят только перед началом эксперимента (рисунок 27).



Рисунок 27. Процесс кормления *Daphnia magna Straus* в ходе эксперимента (фото — Садов Сергей)

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. Неподвижных особей считают погибшими, если не начинают двигаться в течение 15 секунд после легкого покачивания стакана. Если гибель дафний в контроле превышает 10 %, результаты опыта не учитывают, и он должен быть повторен.

*Таким образом, метод биотестирования с использованием раков *Daphnia magna Straus* отличается наглядностью представляемых результатов, однако требует крайней осторожности при выведении и кормлении вносимого поколения тест-организмов. К тому же, не смотря на короткую продолжительность экспозиции, требуется достаточно долгая по продолжительности времени подготовка, что несколько затрудняет быстрое получение результатов. При этом, в связи с приготовлением водной вытяжки, метод учитывает только ограниченное количество соединений, перешедших в раствор, от изначально находящихся в грунте. В связи с чем его применение в рамках экотоксикологических исследований при оценке класса опасности отхода является целесообразным только в отношении жидких субстратов.*

4.1.3 Биотестирование грунтов с применением водорослей

Согласно 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» для биотестирования воды и водных вытяжек используют только альгологически чистую культуру водорослей *Scenedesmus quadricauda*, находящуюся в экспоненциальной стадии роста (через 3-5 суток после пересева). Для поддержания экспоненциальной стадии роста водорослей пересев осуществляют регулярно 1 раз в 7 суток.

Предварительно водоросли выращивают в специально приготовленной среде для культивирования в люминостате.

Перед началом эксперимента исходную культуру водорослей (3-5-суточную) сгущают до образования суспензии путем центрифugирования (5 мин при 6 тыс. об/мин) или фильтрования через мембранный фильтр и определяют исходную численность клеток суспензии водорослей в камере Горяева, чтобы рассчитать необходимый объем добавки суспензии (в контрольные и испытуемые колбы), обеспечивающий нужную плотность клеток при посеве в начале эксперимента.

После пересева и тщательного перемешивания водоросли в контрольных и испытуемых колбах перед началом эксперимента подсчитывают в камере Горяева независимо от того, какой метод измерений (прямой счет или флуоресцентный) будет в дальнейшем использоваться.

Численность водорослей в начале биотестирования должна составлять в каждой колбе 25-35 тыс. кл./см³.

После этого содержимое колб тщательно перемешивают и закрывают их ватно-марлевыми пробками или алюминиевой фольгой (рисунок 28, а) и помещают на 30 минут в люминостат (рисунок 28, б). Температуру в люминостате поддерживают от +22 °С до +25 °С, освещенность 3000-10000 лк, световой период 24 часа.



Рисунок 28. Опытные и контрольные колбы (а) в люминостате (б) (фото — Садов Сергей)

После 30-минутной экспозиции в контрольных колбах на приборе измеряют уровень флуоресценции (рисунок 29, а). Измерение уровня флуоресценции на приборе «Флюорат-02» (рисунок 29, б) можно проводить как в режиме непрерывных измерений, так и в режиме измерительного тракта.

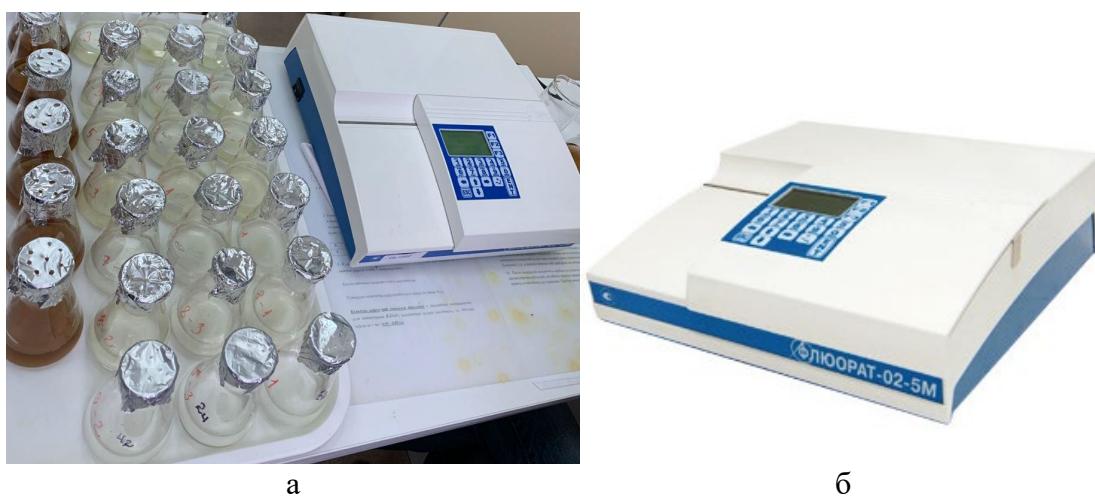


Рисунок 29. Опытные и контрольные колбы (а) (фото — Садов Сергей) в флуориметре марки «Флюорат-02» (б) (Satu. URL: <https://satu.kz/>)

В проведенном эксперименте использовался метод непрерывных измерений. Для этого прибор устанавливают в режим непрерывных измерений, при этом на приборе фиксируется

число усредненных измерений $N = 8$. Контрольные колбы поочередно выдерживают 3 минуты в темноте. Выдержанную в темноте колбу перемешивают легким круговым движением влево и вправо, ее содержимое выливают в 2 кюветы из кварцевого стекла. Кюветы поочередно помещают в камеру прибора. С момента появления на индикаторном табло первых цифр в течение 30 секунд наблюдают за показаниями прибора, фиксируют максимальное значение уровня флуоресценции. Содержимое кювет выливают обратно в соответствующую контрольную колбу. Далее для каждой колбы рассчитывают среднее значение уровня флуоресценции по двум измерениям.

После измерения колбы с контрольными пробами переносят обратно в люминостат. Замеры уровня флуоресценции в контрольных колбах проводят через 30 мин и 72 часа от начала биотестирования. Замеры уровня флуоресценции в исследуемых колбах проводят в конце эксперимента (через 72 часа) от начала биотестирования.

Далее проводится сравнительная характеристика интенсивности флуоресценции хлорофилла в анализируемых пробах по отношению к значению в контроле (приложение 2). При отклонении $>50\%$ проба характеризуется наличием острой токсичности, при отклонении $<20\%$ признается нетоксичной.

При установленном снижении уровня флуоресценции хлорофилла в диапазоне между 20 % и 50 % (по сравнению с контролем за 72 часа экспозиции) выносится заключение об отсутствии острой токсичности в исследуемой пробе. Однако, дополнительно указывается, что эти пробы нельзя признать безвредными по показателю токсичности.

При этом при обнаружении стимуляции (противоположная угнетению реакция тест-объектов на воздействие токсикантов) до уровня 30 % по сравнению с контролем считают, как нетоксичное действие испытуемой воды на тест-объект. Однако при стимуляции более 30 % водная вытяжка из грунта вновь признается токсичной.

Результаты эксперимента признают в том случае, если уровень флуоресценции в контроле возрос в 10 и более раз за 72 часа экспозиции.

*Таким образом, метод биотестирования с использованием зеленой водоросли *Scenedesmus quadricauda* основан на измерении уровня флуоресценции хлорофилла клеток в экспоненциальной фазе роста, что обеспечивает объективную оценку токсичности водных вытяжек из грунтов. Однако для получения достоверных результатов культура водорослей требует строгого контроля условий культивирования и регулярного пересева для сохранения активности клеток. При этом метод имеет ряд ограничений: он учитывает только те загрязнители, которые переходят в водный раствор, исключая адсорбированные на частицах грунта или связанные с микробиологической активностью компоненты, что снижает чувствительность к биологически значимым загрязнениям. Подготовка культуры и необходимость поддержания*

экспоненциальной фазы роста удлиняет время проведения теста, делая его менее оперативным по сравнению с аппликатными методами. Несмотря на это, данный подход остается актуальным для анализа жидких субстратов, где он демонстрирует надежность в выявлении токсичных соединений, способных влиять на фотосинтетическую активность водорослей.

4.2. Методика определения хронической токсичности грунтов

Токсикоз грунтов – своеобразное проявление биологической агрессивности, свойство грунтов угнетать рост и развитие растений в результате образования и накопления в них токсичных продуктов метаболизма микроорганизмов и выделений растений (Лабораторные работы..., 2017). Основные формы микроорганизмов, встречаемых в грунтовых системах, имеют фитотоксичные формы. Токсичность грунтов логично обуславливается выделением различных токсичных химических веществ, производных фенолов, хинонов, полипептидов и иных соединений. Таким образом, применение данного метода позволяет косвенно оценить заселенность исследуемых грунтов микроорганизмами.

В данном эксперименте в виде тест-организма были использованы семена кress-салата (лат. *Lepidium sativum*), сорта «Курлед». Данное однолетнее травянистое растение было выбрано исходя из короткого времени прорастания и высокой степени восприимчивости к различного рода токсикантам на стадии прорастания. Биотестирование позволяет в лабораторных условиях выявить токсичность грунта по реакции живых организмов – биотестов.

Основным параметром, изучаемым в процессе эксперимента, является всхожесть. **Всхожесть** – показатель, который характеризует количеством семян, нормально проросших за определенный период времени при определенных оптимальных условиях проращивания (за исключением изучаемого фактора) по отношению к общему количеству отобранных к проращиванию семян (в % от общего числа). Микробный токсикоз определяется методом грунтовых пластин с инициированным микробным сообществом, которое получают после обогащения образцов грунта крахмалом. Для синхронной активизации микроорганизмов необходимо использовать образцы грунта, выдержаные не менее 2-х недель в воздушно-сухом состоянии. Далее необходимо инициировать развитие микроорганизмов внесением в грунт небольшого количества крахмала, обладающими уникальными иницииирующими свойствами. Разница в результатах, полученных на грунтах с инициированным и неинициированным микробным сообществом, свидетельствуют о наличии микробного токсикоза.

На подготовительном этапе исследуемые образцы грунта растирались в ступке, а затем проводилось увлажнение дистиллированной водой до пастообразного состояния, около 60% от полной влагоемкости. Далее грунт помещался в соответствующие стерильные чашки Петри, в

одну часть подготовленных чашек на поверхность грунтовых пластин наносился тонкий (2-3 слоя крахмальных зерен) слой крахмала (рисунок 30).



Рисунок 30. Крахмал на поверхности песка мелкого неоднородного (*фото — Садов Сергей*)

Далее подготовленные чашки Петри с грунтом помещались в эксикатор, на дне которого находилась вода для поддержания условий постоянной влажности, затем эксикатор помещался в инкубатор, для поддержания условий постоянной температуры +25 °С на 14 дней.

После чего, за 1 день до истечения срока инкубации грунтов производилась подготовка семян тест-растения крестоцвета *Lepidium sativum* путем замачивания в дистиллированной воде в течении 24 часов (рисунок 31).

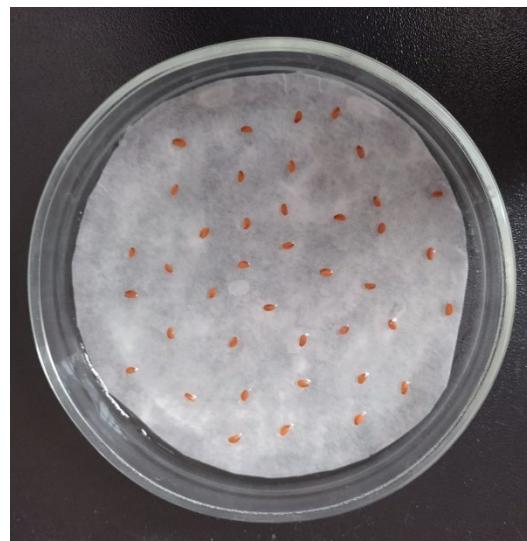


Рисунок 31. Замачивание семян крестоцвета *Lepidium sativum* в дистиллированной воде перед проведением эксперимента по оценке микробного токсикоза грунтов (*фото — Садов Сергей*)

По истечении срока инкубации грунты доставались и отбиралась проба на влажность. Затем в каждую чашку Петри раскладывались по 10 ранее набухших семян кress-салата, общее число которых составило 840 штук для образцов грунта и 100 для контроля, в роли которого выступали чашки Петри с дистиллированной водой и фильтровальной бумагой. Прорацивание проводилось в течение 7 дней. Каждый день добавлялось мерным шприцем по 2 мл дистиллированной воды для поддержания условий постоянной влажности, а также приоткрывались чашки Петри для проветривания и проводился контроль и фиксация всхожести.

По истечении срока эксперимента отбиралась проба грунта на влажность, тест-растения осторожно извлекались и замерялись морфометрические показатели, на основе которых рассчитывалось проявление микробиологической активности. Помимо морфометрических показателей также фиксировались иные проявления активности биотической компоненты грунтов (рисунок 32).



Рисунок 32. Проявление микробиологической активности грунта на его поверхности и поверхности семян (фото — Садов Сергей)

Таким образом, метод определения микробного токсикоза грунтов при помощи аппликатного фитотестирования, хоть и является достаточно продолжительным по времени, однако позволяет учитывать крайне трудно идентифицируемую особенность грунта – проявление его биологической «агрессивности» со временем. В связи с этим, его применение в рамках экотоксикологических исследований при оценке класса опасности грунтов - как отходов является, на наш взгляд, правомерным и необходимым.

Выводы к главе 4

1. Современная система определения класса опасности отходов в России, основанная на анализе химического состава и расчёте показателя Z_c , сталкивается с рядом проблем: неточность пробоотбора грунтов, субъективность учёта компонентов и риск занижения класса опасности из-за методологических ограничений.
2. Аппликатный метод фитотестирования отличается наглядностью представляемых результатов, является достаточно экспрессным и при этом учитывает особенности грунта, как объекта исследований, в связи с чем его применение в рамках экотоксикологических исследований при оценке класса опасности отхода является перспективным и целесообразным с эколого-геологической точки зрения.
3. Метод биотестирования с использованием раков *Daphnia magna Straus* отличается наглядностью представляемых результатов, однако требует крайней осторожности при выведении и кормлении вносимого поколения тест-организмов. К тому же, не смотря на короткую продолжительность экспозиции, требуется достаточно долгая по продолжительности времени подготовка, что несколько затрудняет быстрое получение результатов. При этом, в связи с приготовлением водной вытяжки, метод учитывает только ограниченное количество соединений, перешедших в раствор, от изначально находящихся в грунте, в связи с чем его применение в рамках экотоксикологических исследований при оценке класса опасности отхода является целесообразным только в отношении жидких субстратов.
4. Метод биотестирования с использованием зеленой водоросли *Scenedesmus quadricauda* особенно актуален для анализа жидких субстратов, где он демонстрирует надежность в выявлении токсичных соединений, способных влиять на фотосинтетическую активность водорослей. Однако для получения достоверных результатов культура водорослей требует строгого контроля условий и имеет ряд ограничений: при анализе грунтов, он учитывает только те загрязнители, которые переходят в водный раствор, исключая адсорбированные на твердых частицах или связанные с микробиологической активностью компоненты, что снижает чувствительность к биологически значимым загрязнениям.
5. Метод определения микробного токсикоза грунтов при помощи аппликатного фитотестирования, хоть и является достаточно продолжительным по времени, однако позволяет учитывать крайне трудно идентифицируемую особенность грунта – проявление его биологической «агрессивности» со временем. В связи с этим, его применение в рамках экотоксикологических исследований при оценке класса опасности грунтов - как отходов является, на наш взгляд, правомерным и необходимым.

Глава 5. Результаты экотоксикологических исследований и оценка класса опасности песчано-глинистых грунтов

5.1. Оценка расчетного класса опасности с учетом химико-аналитических исследований

С целью определения уровня загрязнения каждого исследуемого грунта, а в дальнейшем установления категории загрязнения и класса опасности, проводился расчет отношения содержания тяжелых металлов к фоновому значению (коэффициента концентрации) для оценки Zc — суммарного показателя загрязнения (таблица 7), рассчитываемого по формуле:

$$Zc = Kc1 + \dots + Kci + \dots + Kcn - (n - 1),$$

где n — число определяемых компонентов, Kci — коэффициент концентрации i -го загрязняющего компонента, равный кратности превышения содержания данного компонента над фоновым значением. Коэффициент концентрации Kci рассчитывается по формуле:

$$Kci = Ci / Cf,$$

где Ci — фактическое содержание i -го химического элемента в почвах и грунтах, мг/кг, Cf — фоновое содержание i -го химического элемента в грунтах, мг/кг.

Таблица 7

Расчет отношения содержания тяжелых металлов в исследуемых пробах к фоновому и значениям ПДК/ОДК

к фону Наименование пробы (по ГОСТ 25100-2020)	Кадмий (Cd)	Свинец (Pb)	Медь (Cu)	Цинк (Zn)	Никель (Ni)	Мышьяк (As)	Ртуть (Hg)	Суммарный показатель химического загрязнения Zc
Супесь пылеватая пластичная	0,03 0,17	0,07 0,35	0,21 1,03	0,14 0,57	0,12 0,48	0,23 0,35	0,09 1,81	— 1,84
Суглинок пылеватый легкий тугопластичный	0,03 0,17	0,07 0,36	0,14 0,69	0,32 1,34	0,25 0,99	0,30 0,45	0,03 0,58	— 1,34
Песок средний неоднородный	0,03 0,17	0,04 0,21	0,16 0,77	0,14 0,58	0,14 0,57	0,26 0,39	0,02 0,46	— 1
Песок мелкий неоднородный	0,03 0,17	3,40 17,02	0,78 3,82	0,66 2,80	0,22 0,89	0,39 0,59	0,32 6,63	— 27,27

В России предельно допустимые концентрации тяжёлых металлов регламентируются СанПиН 2.1.7.1287-03 и СанПиН 1.2.3685-21. Например, ПДК для свинца составляет 32 мг/кг в валовой форме, а для кадмия — 1 мг/кг в кислой среде, для нефтепродуктов в грунтах - 1000 мк/г, а для бензапирена — 0,02 мг/кг.

По результатам проведения расчётов наиболее загрязненным грунтом оказался отобранный на территории бывшего автомобилестроительного предприятия песок мелкий неоднородный. В его составе были обнаружены превышения ОДК/ПДК по содержанию свинца (Pb) в 3,4 раза, а также значительное превышение фонового значения по следующим элементам: свинец Pb

(в 17 раз), ртуть Hg (в 6,63 раза), медь Cu (в 3,82 раза), цинк Zn (в 2,8 раза). При этом в данном грунте было отмечено 10-ти кратное превышение ПДК по содержанию бензапирена: при допустимой концентрации в 0,02 мг/кг, в пробе было отмечено 2 мг/кг, что соответствует чрезвычайно опасной категории загрязнения (таблица 8). Итоговое значение Zc составило 27,27 удельных единиц, что соответствует умеренно опасной категории загрязнения (таблица 8). В остальных исследуемых грунтах превышений ОДК/ПДК по содержанию тяжелых металлов не отмечалось, однако в образце грунта, отобранном с территории строительства улично-дорожной сети - супеси пылеватой пластичной, отмечалось незначительное превышение фонового содержания по ртути Hg (в 1,83 раза) и околофоновое содержание меди Cu (1,03 раза). Также в данном образце было установлено 4-х кратное превышение нормы по содержанию бензапирена, что соответствует опасной категории загрязнения (таблица 8). Аналогичное незначительное превышение фонового содержания цинка Zn (в 1,34 раза) и околофоновое содержание никеля Ni (0,99 раза) было отмечено в образце суглинка пылеватого легкого тугопластичного, отобранного с территории бывшей свалки. Однако несмотря на это, по всем измеряемым показателям – Zc , содержание нефтепродуктов, бензапирена – образец соответствует чистой категории. В последнем исследуемом образце грунта - песке среднем неоднородном, было обнаружено наибольшее содержание нефтепродуктов – 693 мг/кг, однако даже это значение попадает в категорию: допустимый уровень (таблица 8). По уровню содержания бензапирена было отмечено превышение нормы в 2,75 раза, что соответствует опасной категории (таблица 8).

Таблица 8

Установленные категории загрязнения для исследуемых песчано-глинистых грунтов

Наименование грунта (по ГОСТ 25100-2020)	рН	Категории загрязнения			
		Zc	Нефть	Бензапирен	Общая
Супесь пылеватая пластичная	6,02	Ч	Ду	О	О
Суглинок пылеватый легкий тугопластичный	5,87	Ч	Ду	Ч	Ч
Песок средний неоднородный	5,88	Ч	Ду	О	О
Песок мелкий неоднородный	5,99	УО	Ду	ЧО	ЧО
Примечание. Категории загрязнения: Ч – чистый; Ду – допустимый уровень; УО – условно опасный; О – опасный; ЧО – чрезвычайно опасный, оцениваются в соответствии с СанПиН 1.2.3685-21 и СанПиН 2.1.3684-21.					

В современной практике инженерно-экологических изысканий, в целях экономии времени и средств, из-за недостаточной ознакомленности с данным вопросом, зачастую применяется ошибочный метод – отправка на подтверждение класса опасности только наиболее загрязненной по установленным категориям грунтов, с расчетом на то – что в случае прохождения испытаний с отсутствием установленного токсического эффекта, остальные грунты будут признаны

V классом опасности в виду заведомо «меньшей степени загрязнения». Однако в рамках данного исследования подтверждение расчетного класса опасности было выполнено экотоксикологическими методами для всех грунтов.

Расчет класса опасности отхода для окружающей среды (K) определяется по сумме степеней опасности веществ, составляющих отход⁵ (K_i): $K = K_1 + K_2 + \dots + K_m$, где K_1, K_2, \dots, K_m - показатели степени опасности отдельных компонентов отхода для окружающей среды; m - количество компонентов отхода.

Степень опасности компонента отхода для окружающей среды рассчитывается как отношение концентрации компонента отхода к коэффициенту его степени опасности для окружающей среды: $K_i = C_i/W_i$, где C_i - концентрация i -го компонента в отходе, мг/кг; W_i - коэффициент степени опасности i -го компонента отхода для окружающей среды, мг/кг (Приказ № 536 от 04 декабря 2014г.).

Используя данные, полученные в результате химического анализа исследуемых грунтов, приведенные в таблице 5 и значения коэффициентов степени опасности соответствующих элементов, взятые из приложения № 4 к приказу Министерства природных ресурсов и экологии РФ от 4 декабря 2014 г. № 536⁵, производился расчет степеней опасности компонента отхода для окружающей среды для каждого из определенных элементов (таблица 9). Так же согласно пункту 11 того же приказа, такие макроэлементы как Fe , K , Ca были отнесены к практически неопасным компонентам отходов, а следовательно коэффициент (W_i), равен 10^6 .

Таблица 9

Установленные категории загрязнения

Наименование грунта (по ГОСТ 25100-2020)	Показатели степени опасности отдельных компонентов (K , ед.)										Класс опасности отхода
	Cd	Pb	Cu	Zn	Ni	As	Hg	Нефтепродукты	Бензапирен	$K_{\text{сумм}}$	
Песок мелкий неоднородный	0,00016	0,68011	0,03630	0,05792	0,01152	0,00790	0,00586	0,03271	0,03335	0,866	V
Песок средней крупности неоднородный	0,00016	0,01383	0,00975	0,01182	0,00625	0,00466	0,00160	0,01005	0,00133	0,059	V
Суглинок пылеватый легкий тугопластичный	0,00016	0,01445	0,00651	0,02779	0,01282	0,00608	0,00051	0,00492	0,00033	0,074	V
Супесь пылеватая пластичная	0,00016	0,00845	0,00732	0,01202	0,00735	0,00527	0,00041	0,14816	0,00092	0,190	V

Таким образом, по результатам расчетного метода всем исследуемым пробам грунта был присвоен V - практически неопасный класс. Для его подтверждения необходимо проведение дополнительных экотоксикологических исследований.

5.2. Оценка установленного расчетным методом класса опасности с применением экотоксикологических исследований

Для верификации V класса опасности, установленного расчетным методом в отношении исследуемых проб грунта, согласно приказу Росприроднадзора № 536 от 15.06.2019 необходимо экспериментальное подтверждение методами биотестирования с применением не менее двух культур тест-объектов.

5.2.1. Подтверждение класса опасности с применением *Daphnia magna Straus*

В рамках настоящего исследования первым выбранным методом для подтверждения класса опасности, согласно действующим нормативам, стала оценка токсичности с использованием культур гидробионтов. Как одна из наиболее широко распространённых была выбрана ФР.1.39.2007.03222 «Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний». В данной методике основным фиксируемым параметром является определение числа выживших раков в каждой пробе исследуемых разбавлений субстрата методом прямого счета, с учетом изменения морфологических особенностей тест-культуры (рисунок 33).

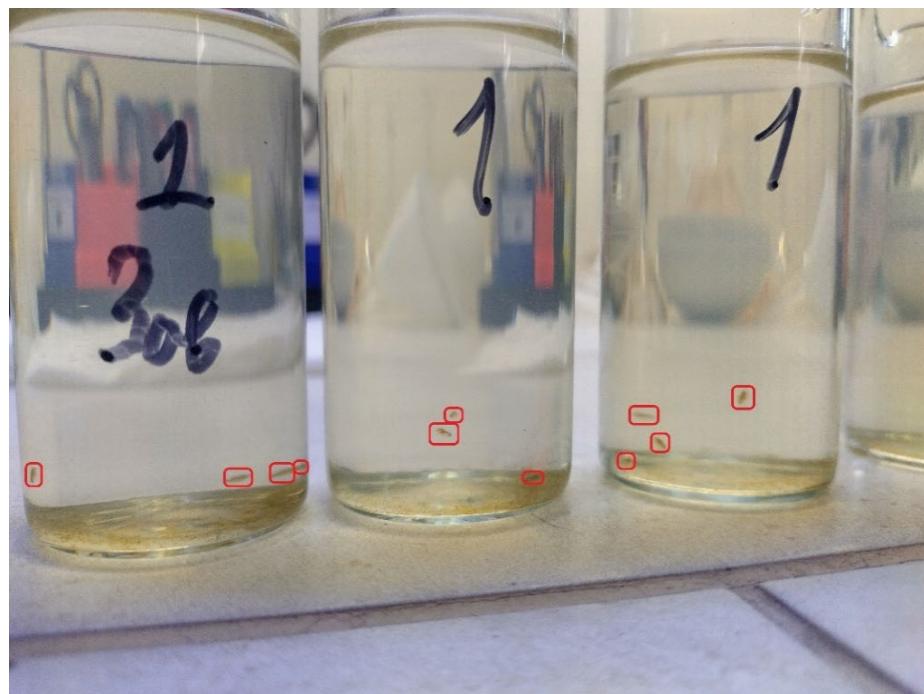


Рисунок 33. Определение смертности раков *Daphnia Magna* на 4 день экспозиции (фото — Садов Сергей)

По результатам проведенных экспериментальных исследований, все анализируемые пробы грунтов были характеризованы отсутствием острого токсического эффекта, поскольку

наблюдалась 100% выживаемость раков *Daphnia Magna* во всех кратностях разбавления водной вытяжки (рисунок 34, затонированная область). В связи с этим всем исследуемым грунтам может быть присвоен V класс опасности.

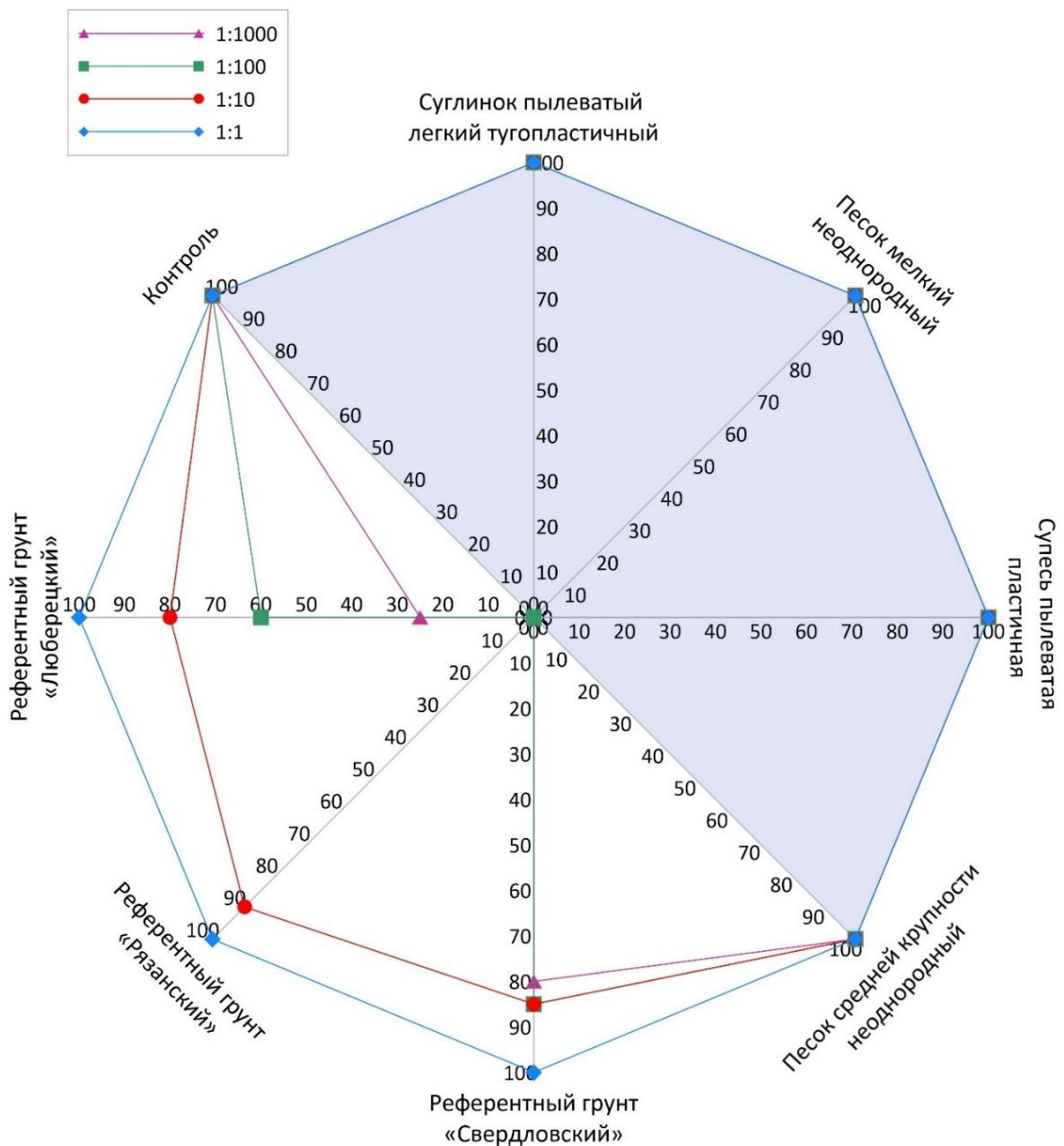


Рисунок 34. Выживаемость дафний (%) в водных вытяжках из исследуемых грунтов

Однако, были отмечены изменения морфологических особенностей ветвистоусых раков *Daphnia magna Straus*, в виде уменьшения размера тест-объектов с увеличением кратности разбавления вытяжки. Данный эффект может быть связан с уменьшением количества и доступности питательных веществ из водной вытяжки грунтов по мере увеличения доли дистиллята в пробе.

Наиболее ярко этот эффект проявлялся в пробах, приготовленных из референтных грунтов, оцениваемых в рамках определения значимости исходного материала для приготовления контрольных образцов. Также именно в пробах из референтных грунтов отмечалась гибель раков, достигающая 100% в зависимости от кратности разбавления и типа используемого песка.

Например, при использовании песка J₂₋₃ средней крупности однородного, при приготовлении референтного грунта «Свердловский», значение выживаемости (доли выживших раков от общего числа) упало с 100% в пробе без разбавления до 85% при 10-ти кратном и 100 кратном разбавлении, и до 80% при 1000 кратном.

При использовании песка afglQII крупного однородного, при приготовлении референтного грунта «Рязанский», значение выживаемости (доли выживших раков от общего числа) упало с 100% в пробе без разбавления, до 90% при 10-ти кратном, и до 0% при 100 и 1000 кратном разбавлении.

При использовании песка mK₁₋₂ средней крупности однородного, при приготовлении референтного грунта «Люберецкий», значение выживаемости (доли выживших раков от общего числа) упало с 100% в пробе без разбавления, до 80% при 10-ти кратном, до 60% при 100 и до 25% при 1000 кратном разбавлении.

Таким образом, во всех исследуемых образцах грунта отсутствует острый токсический эффект, в связи с чем им может быть присвоен V класс опасности. В отношении референтных грунтов было установлено заметное влияние исходного материала на результаты экотоксикологических исследований, что обуславливает значимость разработки состава и способа приготовления контрольного грунта не на нормативах для почвенных образцов, а с учетом особенностей грунта – как объекта исследований.

5.2.2. Подтверждение класса опасности с применением *Scenedesmus quadricauda*

Вторым применённым методом для подтверждения класса опасности грунтов стало биотестирование с применением одноклеточных водорослей. Исследования проводились в соответствии с 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». На основе интенсивности флуоресценции хлорофилла определялось значение в контроле и по отклонению значений в исследуемых образцах от установленного контрольного уровня определялось наличие острой токсичности и показатель биологически значимого влияния состава анализируемых грунтов (рисунок 35).

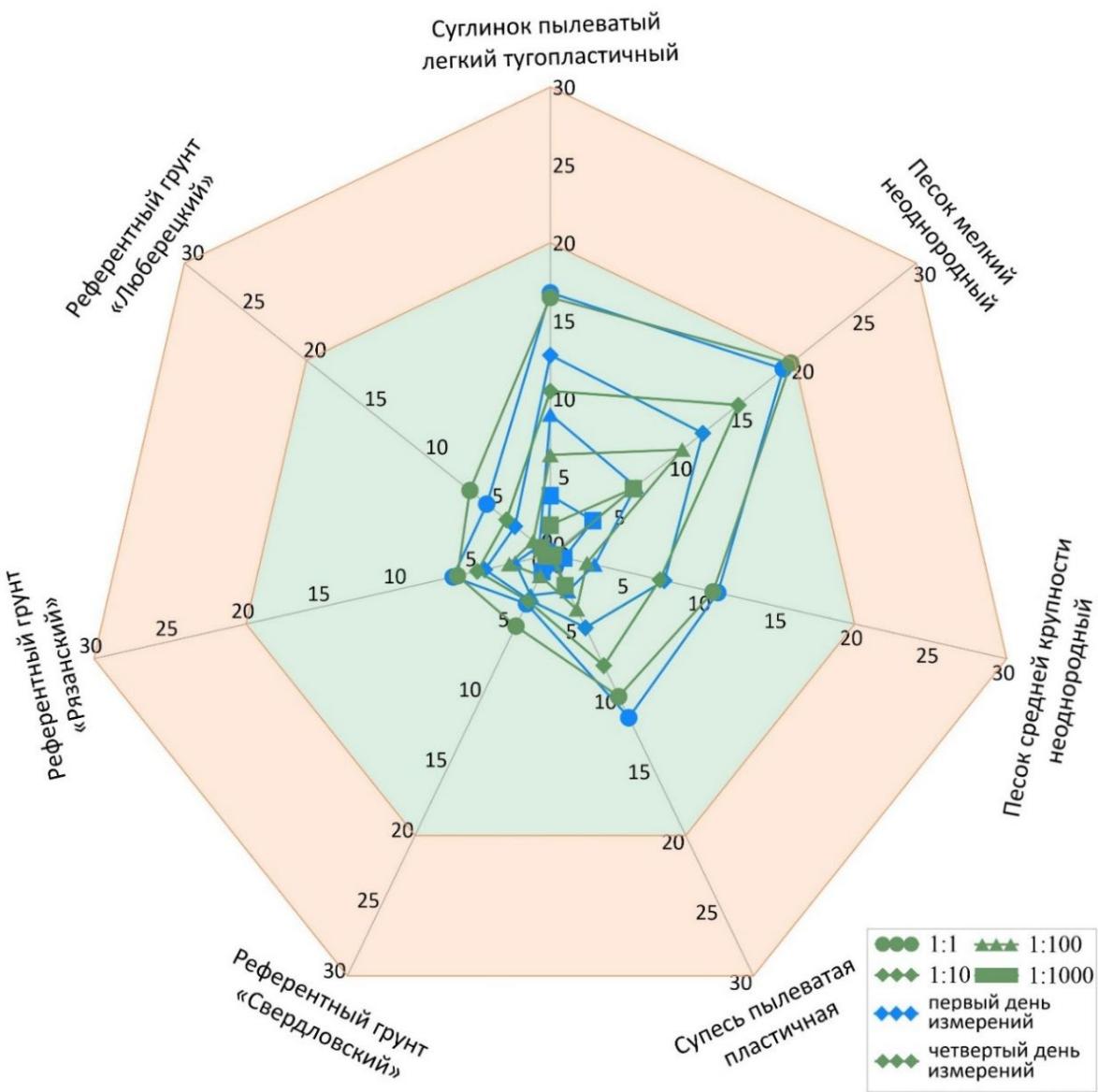


Рисунок 35. Отклонение интенсивности флуоресценции в пробах анализируемых образцов (в %) от значения в контроле. Зеленая зона (<20%) – отсутствие проявления токсичности, оранжевая зона (в диапазоне от 20% до 50%) – биологически значимое влияние, недостаточное для характеристики острой токсичности среды

По результатам проведения эксперимента, все анализируемые пробы имели отклонение по интенсивности флуоресценции не более 20%, таким образом подтвердив возможность отнесения исследуемых грунтов к V классу опасности. При этом наиболее токсичной оказалась проба из песка мелкого неоднородного, отобранного с территории бывшего автомобилестроительного предприятия. Максимальное значение отклонения достигло 19,7% в последний день проведения эксперимента. При этом во всех анализируемых разбавлениях водной вытяжки из грунтов отмечалось постепенное снижение степени отклонения от контрольного значения по мере увеличения кратности разбавления пробы дистиллированной водой.

Таким образом, по результатам проведения биотестирования с использованием двух тест-культур, всем исследуемым образцам грунта был присвоен V класс опасности.

5.3. Оценка расчетного класса опасности с учетом результатов фитотестирования

Учитывая особенности грунта, как объекта экотоксикологического исследования, для оценки достоверности и эффективности проведенного подтверждения класса опасности эллюатными методами биотестирования, дополнительно проводилась серия экспериментов с применением методов аппликатного фитотестирования

5.3.1. Результаты проведения эксперимента по определению острой токсичности

При анализе и сравнении результатов фитотестирования исследуемых проб грунтов с референтным грунтом «Рязанский», в варианте планшетного метода с использованием фильтровальной бумаги, образцы суглинка пылеватого легкого тугопластичного (по *Sinapis alba*) и песка мелкого неоднородного (по *Sorghum saccharatum* и *Sinapis alba*) превысили нормативный порог (20%), что предполагает изменение класса опасности отходов с V на IV, в связи с наличием острого токсического эффекта (рисунок 36). При этом, в экспериментальном варианте расположения семян при непосредственном контакте с грунтом (без фильтровальной бумаги), данный порог был превышен для всех исследуемых образцов грунтов по обеим применяемым тест-культурам.

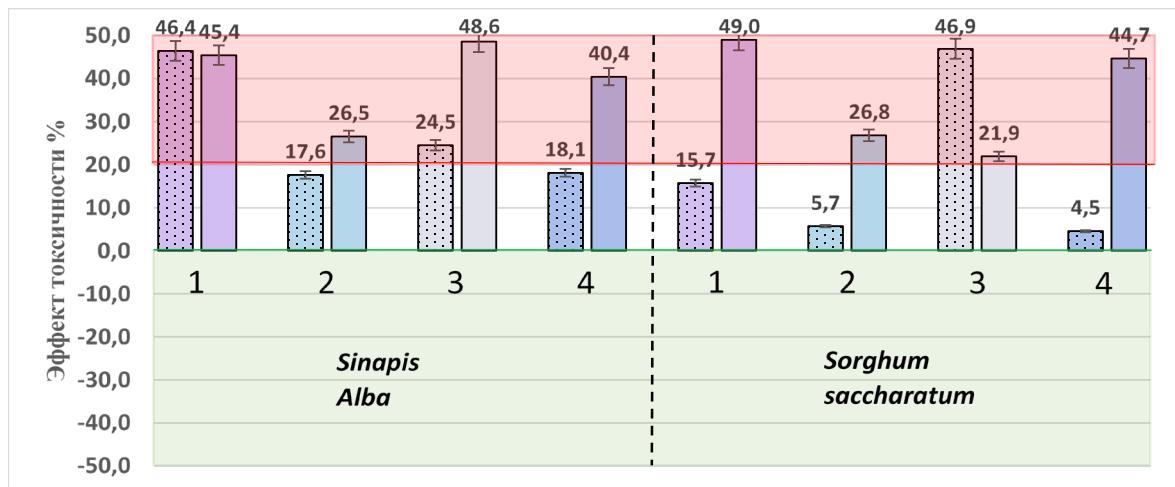


Рисунок 36. Эффект торможения роста тест-растений по отношению к референтному грунту «Рязанский»; красная зона и линия в 20% – пороговое значение для соответствия V классу опасности согласно МР 2.1.7.2297-07, зеленая зона – эффект стимуляции; штриховкой показаны пробы с расположением семян на фильтровальную бумагу, без штриховки – непосредственно на поверхности грунта; 1 – суглинок, 2 – супесь, 3 – песок мелкий, 4 – песок средней крупности

При сравнении результатов фитотестирования исследуемых грунтов с референтным грунтом «Свердловский», в варианте расположения семян в планшете с использованием фильтровальной бумаги, в образцах суглинка пылеватого легкого тугопластичного (по *Sinapis alba*) и песка мелкого неоднородного (по *Sorghum saccharatum*) также был превышен порог в 20% (рисунок 37). При этом, в варианте с расположением семян в планшете непосредственно на поверхность грунта, данное значение было превышено для всех исследуемых образцов песчано-глинистых грунтов по обеим применяемым тест-культурам, за исключением песка мелкого неоднородного при использовании *Sorghum saccharatum*.

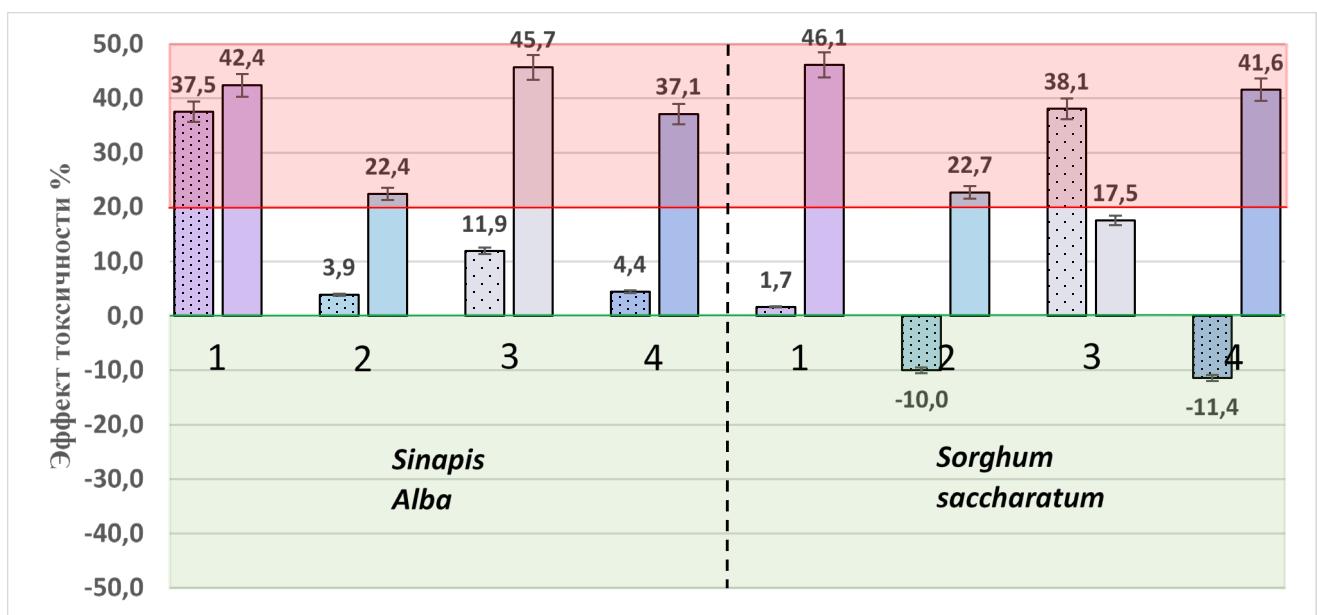


Рисунок 37. Эффект торможения роста тест-растений по отношению к референтному грунту «Уральский»; красная зона и линия в 20% – пороговое значение для соответствия V классу опасности согласно МР 2.1.7.2297-07, зеленая зона – эффект стимуляции; штриховкой показаны пробы с расположением семян на фильтровальную бумагу, без штриховки – непосредственно на поверхности грунта; 1 – суглинок, 2 – супесь, 3 – песок мелкий, 4 – песок средней крупности

При сравнении исследуемых проб с референтным грунтом «Люберецкий», в варианте планшетного апликатного фитотестирования с использованием фильтровальной бумаги, образцы суглинка пылеватого легкого тугопластичного (по *Sinapis alba*) и песка мелкого неоднородного (по *Sorghum saccharatum*) превысили нормативное значение в 20% (рисунок 38). При этом, в отличие от предыдущих двух вариантов референтных грунтов, в экспериментальном варианте расположения семян, при непосредственном контакте с грунтом, данный порог был превышен

по *Sinapis alba* для всех грунтов, кроме супеси, а по *Sorghum saccharatum* только для суглинка и песка среднего.

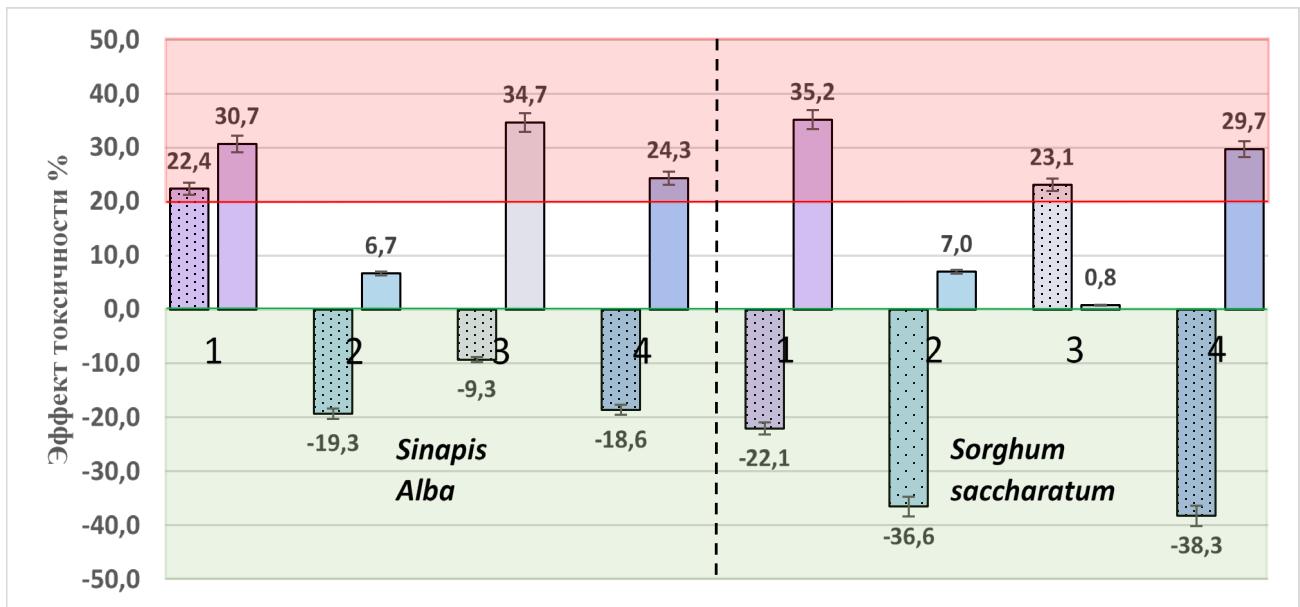


Рисунок 38. Эффект торможения роста тест-растений по отношению к референтному грунту «Люберецкий»; красная зона и линия в 20% – пороговое значение для соответствия V классу опасности согласно МР 2.1.7.2297-07, зеленая зона – эффект стимуляции; штриховкой показаны пробы с расположением семян на фильтровальную бумагу, без штриховки – непосредственно на поверхности грунта; 1 – суглинок, 2 – супесь, 3 – песок мелкий, 4 – песок средней крупности

При проведении фитотестирования в дополнение к фиксируемым тест-параметрам отмечались морфологические изменения (рисунок 39) и проявления микробиологической активности грунтов (рисунок 40)

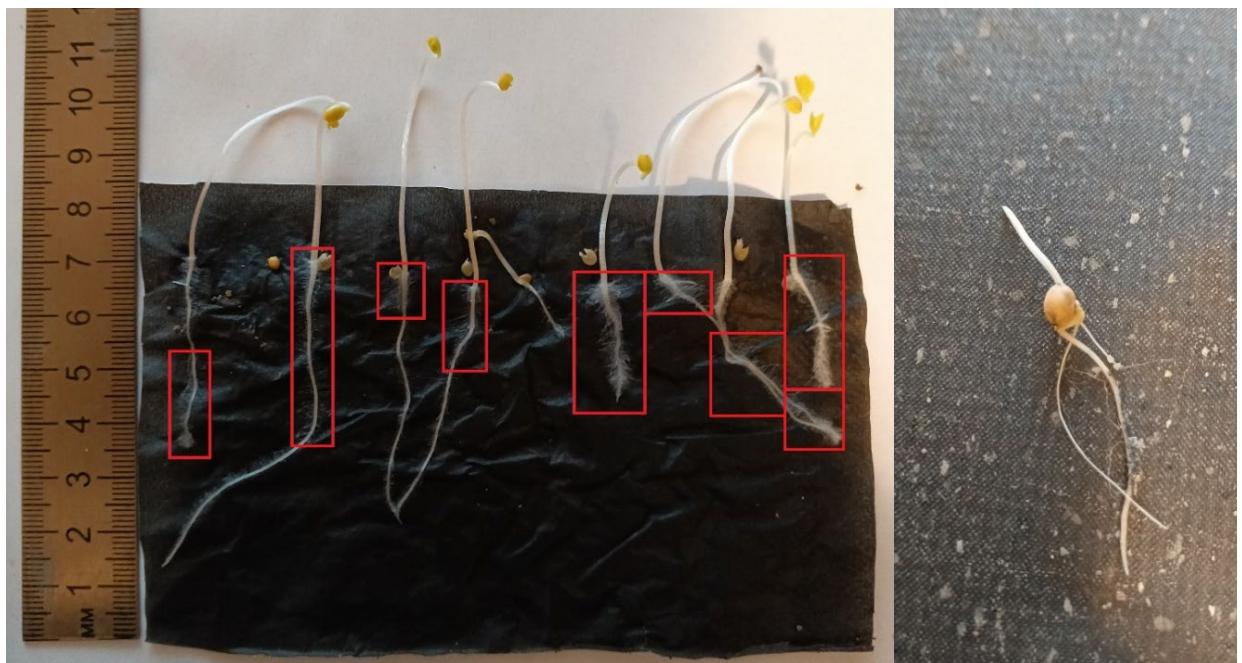


Рисунок 39. Активное развитие боковых отростков корневой системы горчицы и сорго
(фото — Садов Сергей)



Рисунок 40. Развитие мицелия на поверхности грунта и семян сорго в образце песка мелкого неоднородного при расположении семян непосредственно на поверхности субстрата (грунта) (фото — Садов Сергей)

Таким образом, по результатам фитотестирования наибольшую токсичность состава удалось обнаружить для образцов суглинка пылеватого легкого тугопластичного и песка мелкого неоднородного. При этом, при оценке эффекта торможения превышение порога в 20%

было получено для образцов суглинка независимо от используемого для контроля состава референтного грунта, а для образцов песка мелкого – преимущественно в случае непосредственного контакта тест-растений с грунтом. Также была обнаружена характерная зависимость изменения значений контрольного параметра эффекта торможения, как от способа расположения семян тест-культур, так и от состава контрольного референтного грунта. Наиболее чувствительными к токсическому воздействию субстрата оказались семена тест-растений при их расположении непосредственно на грунт, а не на фильтровальную бумагу. Данный эффект может быть обусловлен более эффективным доступом корневой системы развивающихся растений к поверхности частиц грунта с адсорбированными на поверхности твердых частиц соединений, без дополнительного «барьера», создаваемого фильтровальной бумагой.

Также на основании результатов, описанных в пп. 5.1, 5.2 и 5.3.1 может быть сформулировано первое защищаемое положение:

1. Существующая методика экотоксикологических исследований песчано-глинистых грунтов как отходов строительной деятельности для оценки класса их опасности должна быть скорректирована с учетом их особенностей: помимо анализа токсичности водной вытяжки с применением культур гидробионтов необходимо проводить фитотестирование, предусматривающее непосредственный контакт растений с грунтом, позволяющее более точно определить проявление острой токсичности грунта. Данный подход к оценке класса опасности грунтов позволит разделять их объемы на две группы, одна из которых не будет требовать проведения дальнейших химико-аналитических исследований.

5.3.2. Результаты проведения эксперимента по определению хронической токсичности

При проведении фитотестирования на исследуемых грунтах при инициации микробного сообщества (в случае добавления крахмала), отмечалось, что ступенчатое изменение параметров всхожести в образцах суглинка и частично супеси отражает эффект замедления проращивания и роста семян тест-растений, который и является одним из признаков наличия микробного токсикоза (рисунок 41).

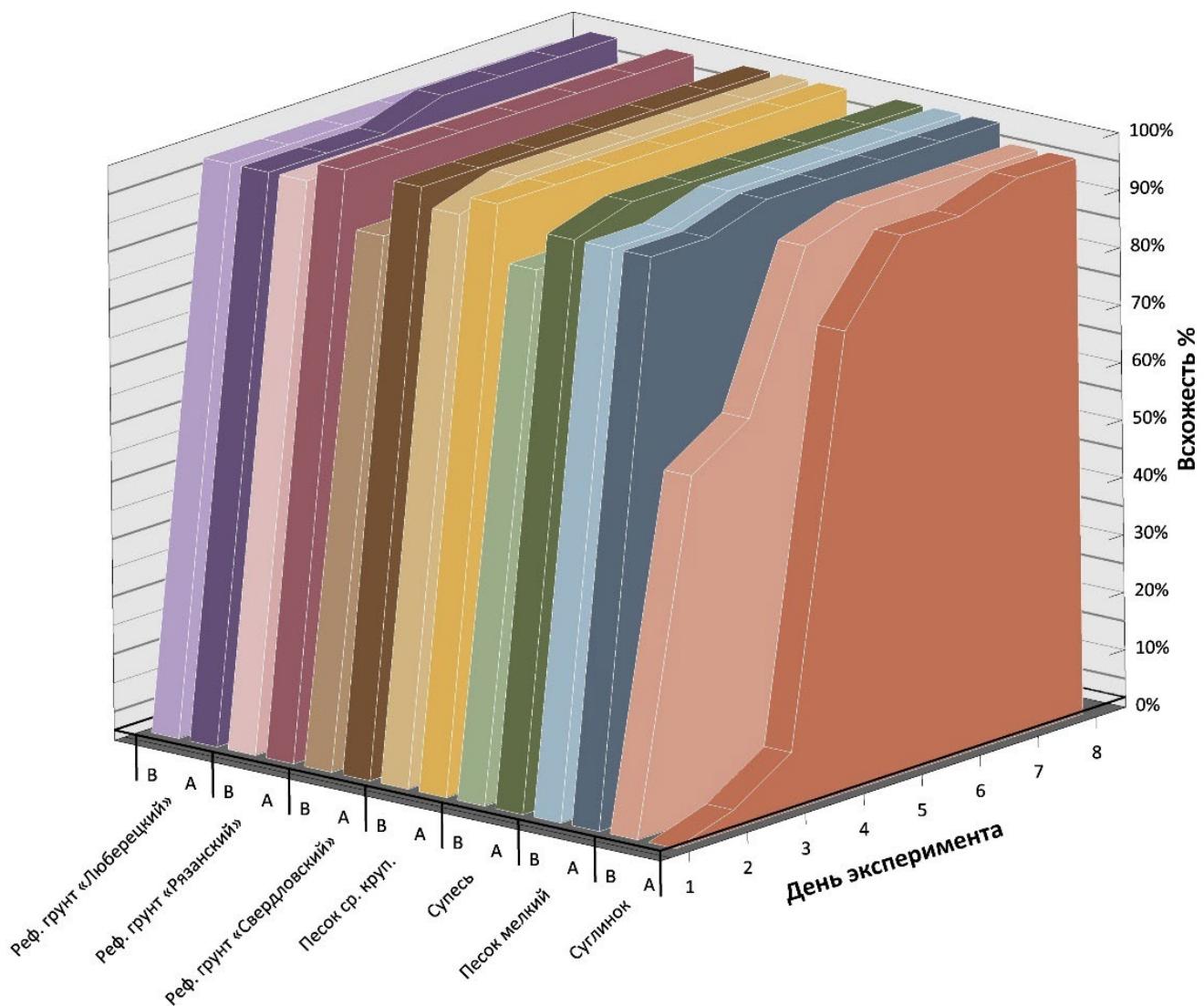


Рисунок 41. Всхожесть кress-салата *Lepidium sativum* в исследуемых пробах грунтов: А – с инициацией микробного сообщества; В – без инициации микробного сообщества

Для более точной идентификации проявления эффекта микробного токсикоза требуется анализ морфологических признаков корней – как главного объекта подверженного воздействию особенностей состава и свойств грунта у высших растений (рисунок 41, 42). Как следует из представленных графиков наибольший процент отклонений от нормы по-прежнему соответствует образцам суглинка, особенно эта разница заметна в данных, полученных для образцов без инициации микробного сообщества.

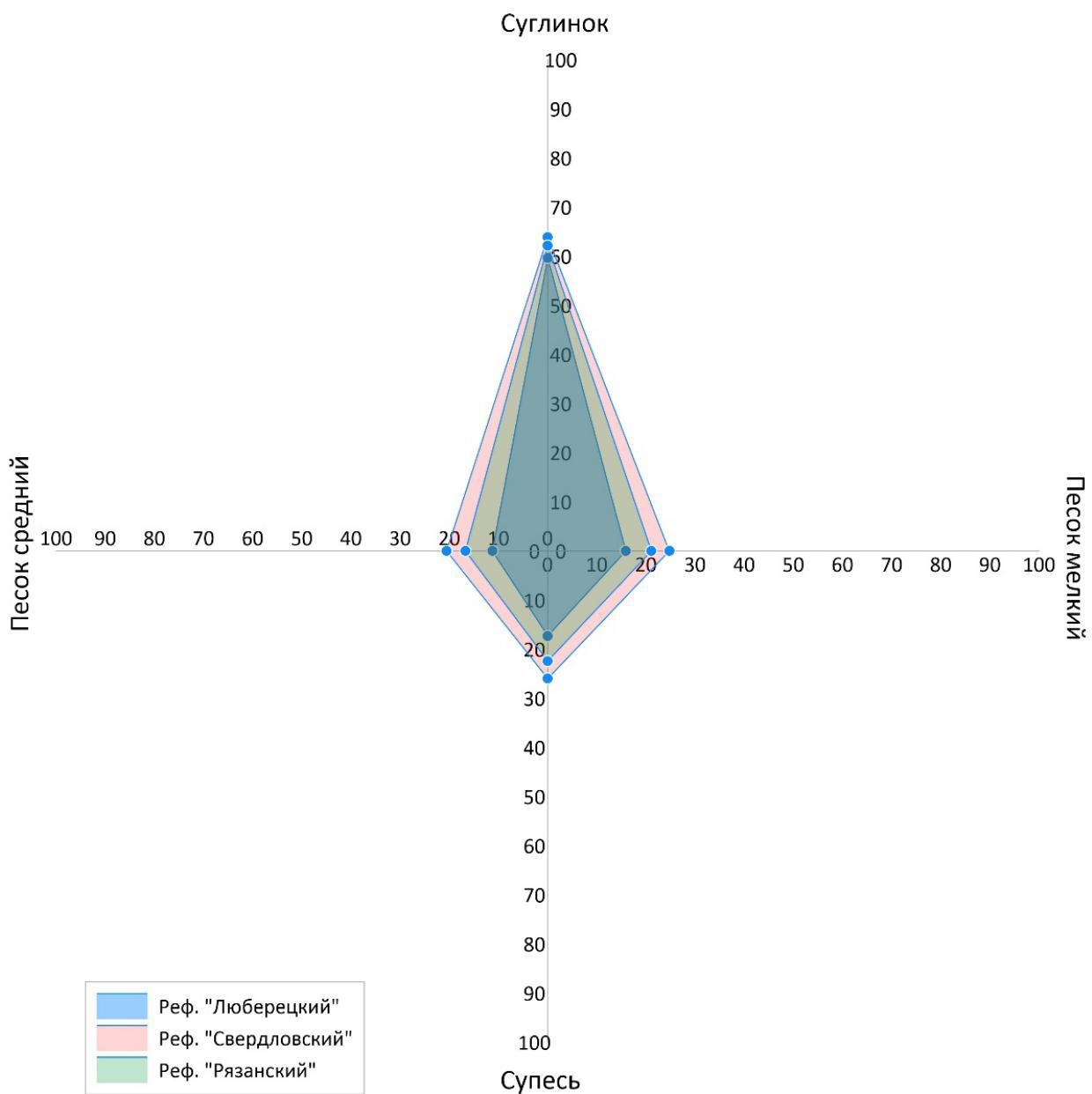


Рисунок 41. Эффект торможения роста корней крестоцветных (*Lepidium sativum*) в исследуемых грунтах по отношению к референтным грунтам без инициации микробного сообщества

Как можно проследить из графика (рис.13), несмотря на то что значение эффекта торможения и зависит от выбора контрольного референтного грунта, общая тенденция сохраняется. Наиболее «токсичными» с позиций оценки состава загрязнения в данном отношении оказались образцы суглинка пылеватого легкого тугопластичного, отобранного с территории бывшей свалки. Не смотря на отсутствие явных превышений ПДК и ОДК по нефтепродуктам, тяжелым металлам и незначительному превышению по бензапирену, именно в данных образцах проявляется токсический эффект в отношении высших растений при непосредственном контакте с грунтом и при краткосрочной экспозиции (4 дня при определении

острой токсичности), и при более длительной – 7 дней, с предварительной выдержкой в две недели для инкубирования развития микроорганизмов. Максимальное значение эффекта токсичности в данных образцах достигло 63,9% при выборе в качестве контрольного грунта «Свердловский».

При этом, для образцов песка мелкого неоднородного, проявлявших признаки токсичности в других экспериментах в данном случае без инициации микробного сообщества, не наблюдалось отличий от других проб грунтов. Значение эффекта токсичности изменялось в диапазоне от 15,9 до 24,7%.

Однако в варианте с предварительной инициацией микробного сообщества результаты значительно меняются (рисунок 42).

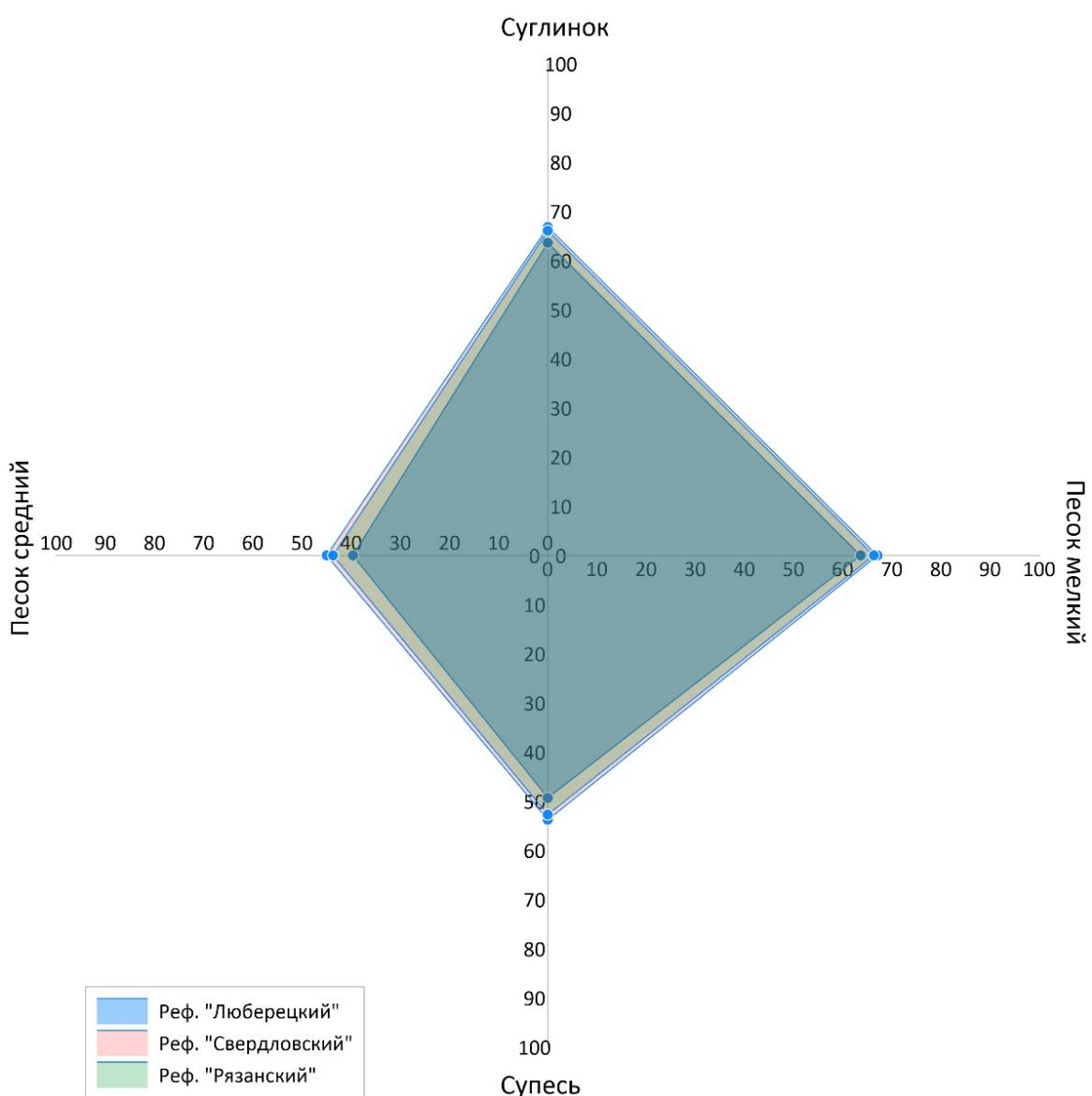


Рисунок 42. Эффект торможения роста корней крестоцветных (Lepidium sativum) в исследуемых пробах по отношению к референтным грунтам с инициацией микробного сообщества

Значения эффекта торможения для образцов суглинка практически не меняются и остаются в интервале от 63,6 до 66,8%. Иная ситуация складывается в отношении образцов песка средней крупности неоднородного. В этих образцах диапазон значений возрастает с 11,3 – 20,6% до 39,7 - 45,0%, и для супеси пылеватой пластичной соответственно с 17,3 – 26,0% до 49,3 – 53,8%. При этом наибольшие изменения отмечаются в образцах песка мелкого неоднородного, где диапазон значений резко возрастает с 15,9 – 24,7% до 63,6 – 67,0%.

Одновременно с контролем эффекта торможения развития корневой системы тест-культуры, отмечались иные проявления микробиологической активности и морфологические изменения.

Например, в отдельных растениях кress-салата из образцов суглинка и песка мелкого отмечалось развитие боковых отростков корневой системы (рисунок 43)

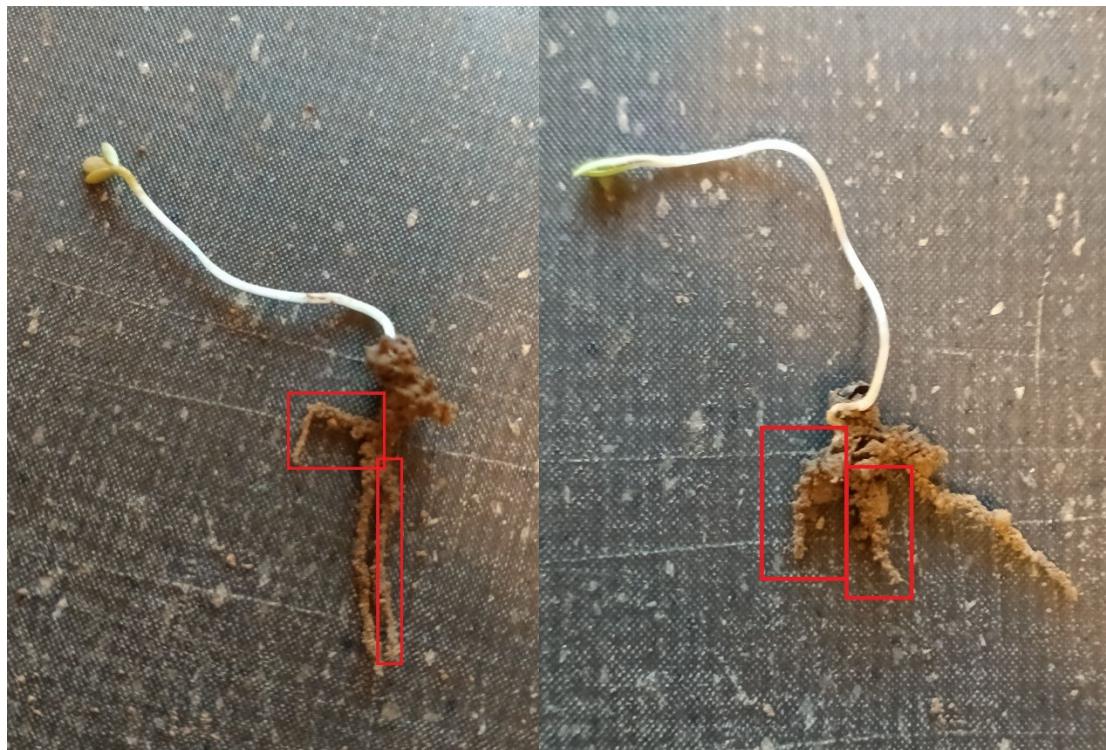


Рисунок 43. Развитие дополнительных отростков корневой системы кress-салата (фото — Садов Сергей)

Помимо развития корневой системы в образцах песка мелкого также отмечалось развитие плесневых культур (рисунок 44) и незначительное изменение цвета поверхности грунта (рисунок 45).



Рисунок 44. Развитие плесневых культур на поверхности песка мелкого (фото — Садов Сергей)



Рисунок 45. Изменение цвета (потемнение) поверхности грунта в образце песка мелкого (фото — Садов Сергей)

Аналогичные проявления микробиологической активности отмечались в образце суглинка с инициацией микробного сообщества (рисунок 46) и без инициации (рисунок 47).



Рисунок 46. Развитие плесневых культур на поверхности суглинка в образцах с инициацией микробного сообщества (фото — Садов Сергей)



Рисунок 47. Развитие плесневых культур и мицелия на поверхности суглинка в образцах без инициации микробного сообщества (фото — Садов Сергей)

Таким образом наиболее чувствительным по отношению к инициации микробного сообщества оказался песок мелкий неоднородный, проявивший наибольший рост эффекта торможения развития корневой системы в образцах с добавлением крахмала. Однако проявление микробиологической активности в виде хронической токсичности было обнаружено во всех исследуемых грунтах. При этом единственным типом грунтов, проявлявшим подобный эффект без добавления питательной среды, стали образцы суглинка пылеватого легкого тугопластичного, отобранныго на территории бывшей свалки.

Также на основании литературного анализа (глава 2) и результатов, описанных в пп 5.3.2 может быть сформулировано второе защищаемое положение:

2. При выполнении экотоксикологических исследований, направленных на установление класса опасности песчано-глинистых грунтов, необходимо проведение оценки биотических свойств грунтов, обусловленных жизнедеятельностью микроорганизмов, характеризующих проявление хронической токсичности, имеющей важное значение при определении класса опасности. В качестве метода оценки для широкого применения может быть рекомендована методика оценки микробного токсикоза.

5.4. Интегральная оценка класса опасности песчано-глинистых грунтов с применением фитотестирования

По результатам расчетного метода, основанного на химико-аналитических исследованиях всем грунтам, был присвоен V класс опасности. Дальнейшая диагностика элюатными методами биотестирования подтвердила отсутствие острого токсического эффекта в водных вытяжках из исследуемых образцов. Однако, учитывая особенности грунта как объекта исследования авторами был сделан вывод о необходимости проверки полученного результата аппликатными методами фитотестирования на высших растениях с учетом не только острой токсичности, но и проявления микробиологической активности, которая может характеризовать проявление хронической токсичности.

По результатам проведенных экспериментов было установлено: наличие острого токсического эффекта в образцах суглинка пылеватого легкого тугопластичного и песка мелкого неоднородного. Причем наиболее ярко данный эффект наблюдался в варианте расположения семян непосредственно на поверхности грунта, что в большей степени позволяет учесть особенности состава и свойств анализируемых грунтов.

При определении микробиологической активности для всех исследуемых грунтов был получен значительный эффект торможения развития корневой системы тест-растений при внесении питательной среды (крахмала). Наибольшую токсичность по данному показателю проявили образцы суглинка пылеватого легкого тугопластичного и песка мелкого неоднородного. Причем на поверхности данных грунтов были зафиксированы плесневые формы, развитие мицелия микроскопических грибов и изменение цвета поверхности грунта.

Таким образом, с учетом результатов аппликатных методов экотоксикологической оценки в отношении суглинка, отобранного с бывшей территории свалки и песка мелкого, отобранного с бывшей территории автомобилестроительного предприятия рекомендуется присвоение IV класса опасности, а песка средней крупности, отобранного с территории строительства линий московского метрополитена и супеси, отобранной с территории строительства улично-дорожной сети – V класс опасности. Также в отношении всех грунтов может быть рекомендовано проведение рекультивационных мероприятий, направленных на снижение их патогенной микробиологической активности.

Выводы к главе 5

1. По результатам расчетного метода всем исследуемым грунту был присвоен V - практически неопасный класс опасности отходов. Для его подтверждения необходимо проведение дополнительных экотоксикологических исследований
2. По результатам биотестирования с применением *Daphnia magna Straus* во всех исследуемых образцах грунтов отсутствует острый токсический эффект, в связи с чем им может быть присвоен V класс опасности. В отношении референтных грунтов было установлено влияние исходного материала (вида кварцевого песка) на результаты экотоксикологических исследований, что обуславливает значимость разработки состава и способа приготовления контрольного грунта, основанного не на нормативах для почвенных образцов, а с учетом особенностей грунта – как объекта исследований.
3. По результатам проведения биотестирования с использованием *Scenedesmus quadricauda* во всех исследуемых образцах грунта отсутствует острый токсический эффект, в связи с чем им может быть присвоен V класс опасности.
4. По результатам проведения биотестирования с использованием двух тест-культур: горчицы белой (*Sinapis alba*) и сорго сахарного (*Sorghum saccharatum*), всем образцам исследуемых грунтов был присвоен V класс опасности
5. По результатам определения острой токсичности с применением аппликатного фитотестирования наибольший эффект был характерен для образцов суглинка пылеватого легкого тугопластичного и песка мелкого неоднородного. При этом, для образцов суглинка порог

в 20% эффекта торможения был превышен не зависимо от используемого в качестве контроля состава референтного грунта, а для образцов песка мелкого – в основном в случае непосредственного контакта тест-растений с грунтом. Также была обнаружена зависимость изменения значений контрольного параметра (эффекта торможения), в зависимости и от способа расположения семян в планшете (на фильтровальной бумаге либо непосредственно на поверхности грунта), и от состава контрольного (референтного) грунта. Наиболее чувствительными к воздействию состава субстрата оказались семена тест-растений при их расположении непосредственно на поверхности грунта, а не на фильтровальной бумаге, располагающейся на поверхности грунта. Данный эффект может быть обусловлен более эффективным доступом корневой системы растений к поверхности твердых частиц грунта с адсорбированными соединениями, без дополнительного «барьера» в виде фильтровальной бумаги.

6. Проявление микробиологической активности в виде хронической токсичности было обнаружено во всех исследуемых грунтах. Наиболее чувствительным по отношению к инициации микробного сообщества оказался песок мелкий неоднородный, отобранный с бывшей территории автомобилестроительного предприятия. Грунтом, где была зафиксирована высокая микробиологическая активность без добавления питательной среды, стал суглинок пылеватый легкий тугопластичный, отобранный с территории бывшей свалки.

7. С учетом результатов аппликатного фитотестирования образцам суглинка и песка мелкого рекомендуется присвоение IV класса опасности, а песка средней крупности и супеси – V класса. Также в отношении всех грунтов рекомендуется проведение рекультивационных мероприятий, направленных на снижение микробиологической активности, вызванной патогенной в отношении высших растений микробиотой.

Глава 6. Обоснование методических подходов к оценке класса опасности песчано-глинистых грунтов с эколого-геологических позиций

6.1. Предлагаемый методический подход к оценке класса опасности песчано-глинистых грунтов

С 2017 года в рамках реализации закона «Об охране окружающей природной среды» в России разрабатывается Государственная программа «Отходы» (Правительство России. URL: <http://government.ru>). Ее основная цель заключается в обеспечении экологически безопасного развития страны путем стабилизации и дальнейшего снижения уровня загрязнения окружающей среды отходами, а также экономии природных ресурсов за счет максимального вторичного вовлечения отходов в хозяйственный оборот. Для достижения этой цели программа предусматривает решение следующих задач:

- снижение объемов образования отходов на основе внедрения малоотходных и безотходных технологий;
- сокращение видов и объемов токсичных и опасных отходов на основе применения новых технологических решений;
- повышение уровня использования отходов;
- эффективное использование сырьевого и энергетического потенциала вторичных материальных ресурсов;
- экологически безопасное размещение отходов;
- целенаправленное распределение финансовых и иных ресурсов на удаление отходов и их вовлечение в хозяйственный оборот.

Программа постоянно обновляется с учетом развития технологий обращения с отходами, совершенствования информационных систем и изменений в законодательной базе. Последняя актуализация программы учитывает Приказ Минприроды России № 1021 от 07.12.2020 «Об утверждении Методических указаний по разработке проектов нормативов образования отходов и лимитов на их размещение», что предполагает четкую систему обращения с отходами.

В рамках данной системы мероприятиям по размещению, утилизации и переработке отходов предшествует ряд подготовительных этапов (рисунок 48). При этом ряд вопросов, особенно актуальных в отношении грунтов, возникает в рассматриваемой системе обращения уже на самых ранних стадиях.

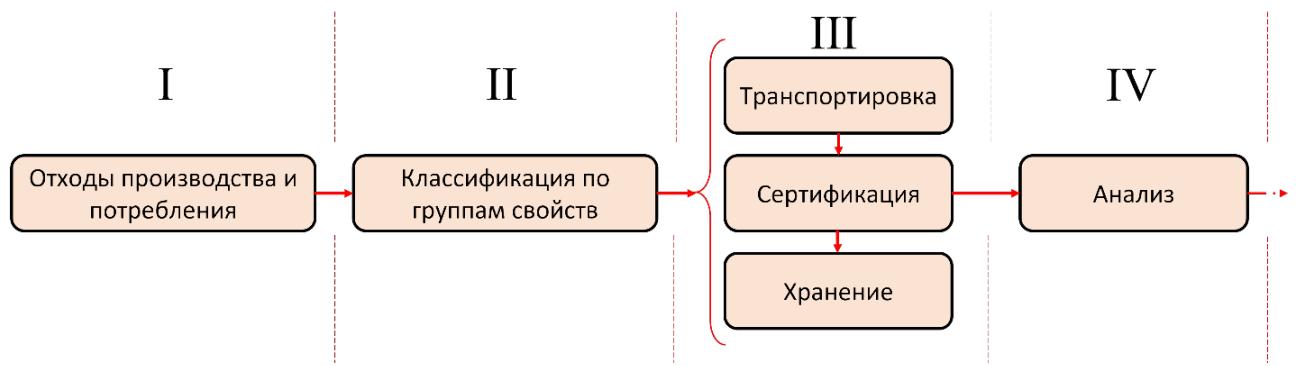


Рисунок 48. Структурная схема обращения с отходами производства и потребления, составлено авторами на основе данных (Григорьева, Садов, 2024)

Например, на этапе, в котором принимается решение об отнесении грунта к категории отходы, выполняется отбор проб для их последующего анализа. Современная система пробоотбора грунтов основана на исследованиях, проведенных в 80–90-х годах прошлого века, когда отходы еще не рассматривались с точки зрения сложной многокомпонентной системы. Основным руководством в тот период был документ Ф Р .1.39.2007.03222, который содержал рекомендации для экотоксикологических исследований водной среды. Тогда как в настоящее время исследования водной среды и массивов грунтов существенно различаются. К сожалению, в отношении последних до сих пор нет единого норматива, регламентирующего систему отбора проб для исследований, поэтому эта задача ложится на изыскателей, каждый из которых выбирает свой подход. В связи с этим комплексность и научная обоснованность инженерно-экологических изысканий в отношении грунтов соблюдается не всегда. В качестве возможного решения сложившейся ситуации, можно использовать метод «сеточного отбора» основанный на СП 502.1325800.2021 который позволяет полностью покрыть территорию изысканий, и дать представление не только о площади распространения, но и возможной глубине ареала загрязнения массива грунтов. Сам метод предполагает пробоотбор с территории изысканий из одного или нескольких слоев, или горизонтов методом «конверта» (или по диагонали), с таким расчетом, чтобы каждая проба представляла собой часть грунта, типичного для генетических горизонтов или слоев данного «разреза». Количество проб грунта и размер пробной площадки соответствует требованиям ГОСТ 17.4.3.01-2017 (для однородного или неоднородного разреза), а также пункту 4.3.3.6.2 инструкции по проведению инженерно-экологических изысканий для подготовки проектной документации строительства, реконструкции объектов в г. Москве.

На следующем этапе, классификации, грунты и другие отходы распределяются по определенным группам не только на основе терминологических критериев, но и с учетом их

компонентного состава, агрегатного состояния, типа производства, образующего отходы, и множества других факторов.

После классификации осуществляются процессы транспортировки, сертификации и хранения, которые в настоящее время можно считать наиболее проработанными этапами общей системы обращения с отходами. Основная цель этих мероприятий – доставка отходов от места их образования до пункта сертификации и временного хранения, где их характеристики остаются неизменными в течение необходимого периода перед переходом к следующему этапу.

На следующей стадии проводится анализ потенциального негативного воздействия отхода на окружающую среду. В зависимости от ранее установленного типа отхода выполняется комплекс исследований, направленных на определение его специфических характеристик, таких как элементный и химический состав. Эти исследования необходимы для установления класса опасности отхода по методикам, учитывающим особенности конкретных типов отходов.

Основной метод расчета класса опасности детально описан в Приказе Минприроды России от 4 декабря 2014 года № 536 "Об утверждении Критерииев отнесения отходов к I–V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду". Он предусматривает расчет показателя степени опасности компонентов отхода (Z_c), который определяется как сумма отношений концентраций компонентов к их коэффициентам степени опасности для окружающей среды. Однако при расчете Z_c учитываются только те элементы, концентрации которых превышают фоновые значения для данной территории, и соответствуют условию минимального значения: $K_i > 1$. Это приводит к тому, что количество учитываемых элементов меньше реального. Попытка учесть все элементы может привести к ситуациям, когда значение Z_c становится отрицательным, что противоречит базовым принципам расчета (Кунаков, 2017).

Такая неопределенность в количестве учитываемых показателей является одной из причин ошибок при определении степени загрязнения грунтов. Особенно опасны случаи, когда величина Z_c находится вблизи граничного значения между двумя классами опасности. Незначительное изменение количества учитываемых элементов может искусственно снижать класс опасности, что создает риски манипулирования результатами (Кунаков, 2017).

Стоит отметить, что из-за неточных формулировок в некоторых законодательных актах существует практика присвоения V класса опасности или другого класса без проведения дополнительных анализов, если отходы попадают под одну из категорий Федерального классификационного каталога отходов (ФККО) (Росприроднадзор URL: <https://rpn.gov.ru>).

При получении V класса опасности расчетным способом, необходимо подтверждение этого факта экспериментальным методом, в качестве которого чаще всего применяется биотестирование на гидробионтах (Терехова, 2011). Основным критерием является определение коэффициента кратности разведения водной вытяжки, при котором отсутствует вредное

воздействие на тест-организмы, в качестве которых выступают гидробионты (водные организмы). При этом необходимо использование не менее двух тест-объектов из разных систематических групп (Терехова, 2007; Тимофеева, 2011; Alwan, 2018; David et al., 2020).

Сам метод биотестирования, согласно РД 64-085-89 «Методические указания. Методические основы биотестирования и определения генетической опасности отходов, поступающих в окружающую среду» выполняется в основном на фитогидробионтах, одноклеточных зеленых водорослях *Scenedesmus quadricauda*, зоогидробионтах, инфузориях *Tetrahymena pyriformis* или низших ракообразных - дафниях *Daphnia magna*. Таким образом, метод нацелен на исследование суммарного токсического воздействия химических веществ и соединений, способных переходить в водный раствор из отходов на тест-организмы.

Помимо вышеуказанного метода, основанного на применении водных организмов, в практике так же возможно применение фитотестирования на высших растениях элюатным способом, то есть с использованием водной вытяжки из исследуемого субстрата, то есть грунта. В основе этой методики лежит оценка степени токсического воздействия водной вытяжки на тест-культуру, рассчитываемую по изменению длины корней растения по отношению к контролю, в качестве которого в таком случае выступает дистиллированная вода (Лисовицкая, Терехова, 2010; Терехова, 2011).

Начиная с 2019 года официально утвержден метод фитотестирования на высших растениях апликатным способом, при котором тест-растения контактируют непосредственно с грунтом¹. Этот метод отличается повышенной точностью, так как исключает погрешности, связанные с неполным переходом токсичных соединений в раствор (Григорьева, 2022; Григорьева, Садов, 2019; Григорьева и др., 2019).

После определения класса опасности отхода следует этап учета, сбора и сортировки. На этом этапе отходы группируются по классам опасности и заносятся в государственные реестры. Далее проводятся мероприятия по утилизации, повторному использованию, хранению или захоронению. В настоящее время существует множество способов утилизации отходов, включая механические, физические, химические, биохимические, термические и массообменные процессы. Однако для грунтов количество применяемых методов ограничено. Чаще всего грунты захоранивают, используют без предварительной обработки или очищают от загрязнений перед повторным применением. В качестве мер повторного использования грунтов распространены заполнение карьеров на этапе рекультивации, использование в качестве строительного материала, обваловка скважин и отсыпка технологических и иных сооружений (объектов) (Юрк и др., 2020).

Известны также случаи продажи грунтовых масс как способа утилизации (Беляева, 2022). Однако этот подход вызывает споры с точки зрения безопасности дальнейшего использования и

нормативно-правовой базы. Хотя данный метод применялся преимущественно для малоопасных грунтов V класса опасности, судебные разбирательства практически полностью исключили его использование (Судебные и нормативные акты РФ. URL: <https://sudact.ru>).

Таким образом, с учетом всего вышесказанного, современная система анализа отходов и определения класса их опасности (рисунок 49а) подразумевает определенный порядок мероприятий. В начале проводится определение химического и (или) компонентного состава, на основе которого вычисляется расчётным методом⁵ класс опасности. Далее, при получении I-IV классов опасности с отходами проводятся мероприятия по обезвреживанию, утилизации или захоронению, а в случае получения V класса опасности – направляются на обязательное подтверждение экотоксикологическими методами, среди которых наиболее популярным является биотестирование на гидробионтах^{2,3}.

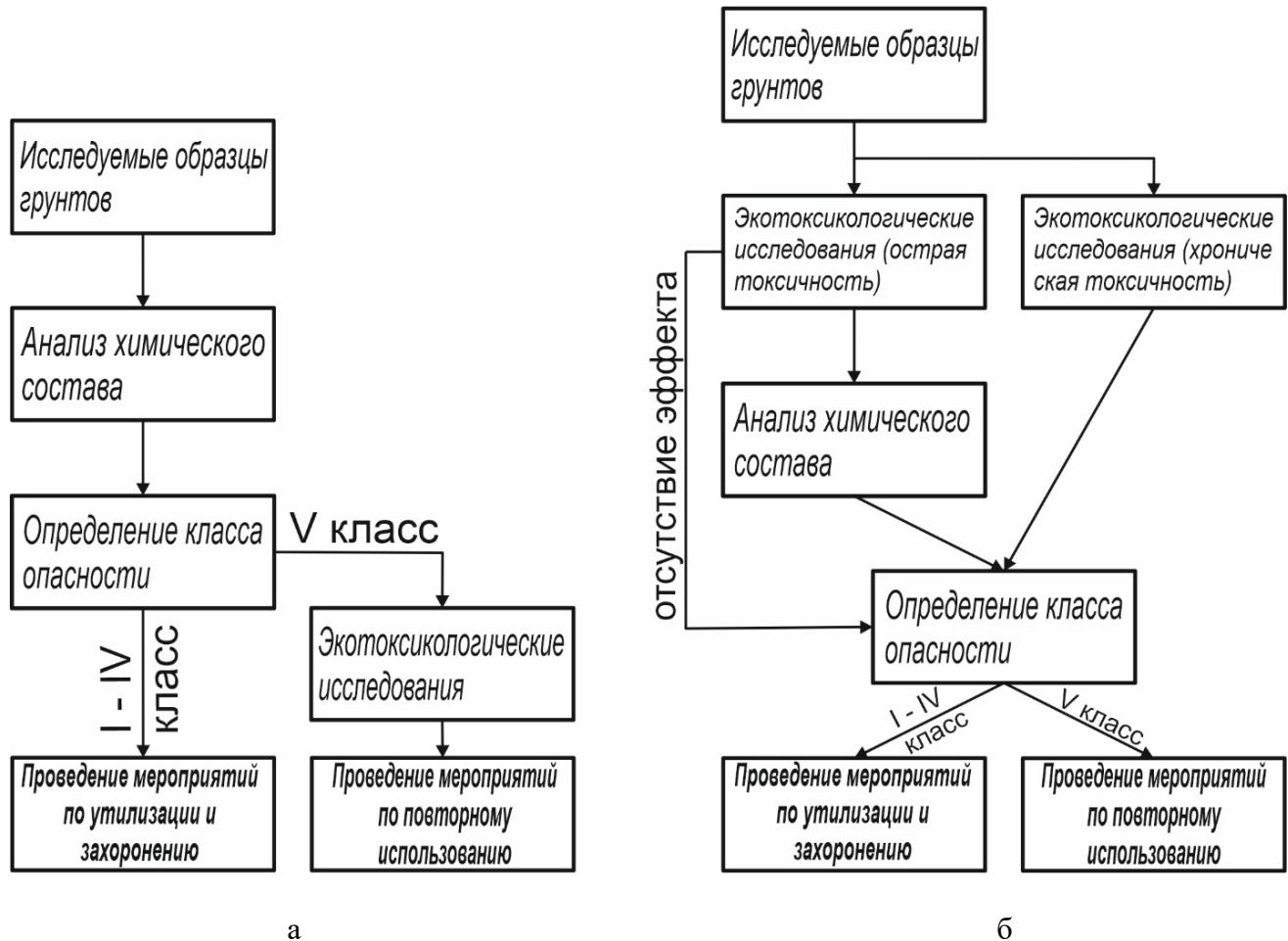


Рисунок 49. Алгоритм для определения класса опасности отхода. а – действующая система, б – предлагаемая авторами

В целях решения ряда проблем, описанных выше, в данном исследовании была поставлена цель проверить работоспособность и эффективность предложенной усовершенствованной модели определения класса опасности грунтов, как отходов строительной деятельности

(рисунок 49б) с эколого-геологической точки зрения. Принципиальными отличиями от действующей системы стали нижеследующие позиции.

1. Экотоксикологические исследования в отношении песчано-глинистых грунтов целесообразно выполнять перед анализом химического состава возможного загрязнения, ориентируясь на биологическую значимость его композиционного влияния на живые организмы.
2. Необходимо расширить ряд обязательных экотоксикологических исследований, включив оценку микробиологической активности, как возможного проявления хронической токсичности состава загрязнения в песчано-глинистых грунтах.
3. Оценка острой токсичности должна проводиться не только на гидробионтах, но и методом планшетного аппликатного фитотестирования с применением культур высших растений.
4. Расчет класса опасности песчано-глинистых грунтов должен вестись с учетом комплекса всех проведенных исследований: биотестирования и химико-аналитических методов.

Данный подход имеет ряд преимуществ с эколого-геологической точки зрения. Проведенная серия экспериментов показала высокую чувствительность высших растений на наличие в исследуемых грунтах (субстратах) токсичных соединений и опасных сообществ биотической компоненты. Недоучет класса опасности песчано-глинистых грунтов может быть обусловлен процессами адсорбции токсичных соединений на поверхности твердых частиц грунта, не перешедших в водную вытяжку в аналогичных эллюатных методах экотоксикологических исследований. Помимо этого, в процессе приготовления водной вытяжки фильтровальная бумага может «задерживать» на себе часть соединений и в особенности микроорганизмов, выступая в роли барьера, таким образом занижая устанавливаемый класс опасности.

Особенно данный эффект был отмечен на примере суглинка пылеватого легкого тугопластичного, отобранного с территории бывшей свалки. По результатам химико-аналитических исследований превышений ПДК/ОДК, за исключением бензапирена, обнаружено не было. Результаты биотестирования с применением *Scenedesmus quadricauda* и *Daphnia magna* показали отсутствие токсического эффекта, а результаты аппликатного фитотестирования и определения микробиологической активности, наоборот, сигнализировали о наличии биологически значимого загрязнения либо неустановленными соединениями, либо патогенными микроорганизмами. Учитывая место отбора образца данное предположение имеет под собой основание, тем более что именно в данном образце было идентифицировано самое активное развитие плесневых форм и мицелия грибов на поверхности грунта и семян, что невозможно было установить в эллюатных способах биотестирования.

Аналогичная ситуация с песком мелким неоднородным, отобранном на территории бывшего автомобилестроительного предприятия. Несмотря на то, что химический анализ выявил

превышения ПДК/ОДК и фона по ряду элементов и соединений, элюатные способы биотестирования не подтвердили наличие токсического эффекта, в то время как планшетными аппликатными методами фитотестирования был установлен и острый, и хронический токсический эффект, а также активное проявление микробиологической активности.

Все это указывает на необходимость интеграции планшетных аппликатных методов фитотестирования в государственную систему оценки класса опасности песчано-глинистых грунтов как отходов строительной деятельности.

Таким образом, современная система определения класса опасности отходов требует совершенствования для повышения точности и достоверности результатов. Включение обязательных экотоксикологических исследований перед анализом химического состава, расширение методов биотестирования за счет планшетного аппликатного фитотестирования и оценки микробиологической активности позволяет выявить скрытые формы загрязнения, не обнаруживаемые традиционными элюатными методами. Проведенные эксперименты подтвердили работоспособность предложенной модели, особенно в отношении песчано-глинистых грунтов, как сложных многокомпонентных систем. Интеграция данного подхода в государственную систему оценки класса опасности обеспечит более надежную защиту окружающей среды при обращении с отходами строительной деятельности.

6.2. Ориентировочная оценка экономической эффективности предложенного подхода

Как показали результаты расчетов и проведенная серия экспериментов, непосредственная оценка класса опасности и степени токсичности состава загрязнения исследуемых песчано-глинистых грунтов планшетным аппликатным методом способна в достаточной степени дать представление о наличии биологически значимых загрязнений в грунте, в отличии от химико-аналитических методов, дающих представление лишь о превышении ПДК по элементам и соединениям, не всегда оказывающим (в зависимости от композиционного состава) токсический эффект на живые организмы. В связи с этим для установления непосредственно тех субстратов, в которых необходимо обнаружить загрязнение химико-аналитическими методами рекомендуется проводить экотоксикологические исследования перед химико-аналитическими, по результатам реакций высших растений.

Данный подход будет целесообразен, в том числе, и с экономической точки зрения. В целях подтверждения сказанного рассмотрим полную стоимость оценки класса опасности одной пробы грунта. Минимально необходимый для этого перечень анализируемых параметров прописан в

СП 502.1325800.2021⁸. В настоящее время для оценки сметной стоимости работ существуют два документа – Справочник Базовых Цеп (СБЦ), действующий на территории всех регионов Российской Федерации, и сборник 3.3 «Инженерно-экологические изыскания. МРР-3.3.02-23⁹», адаптированный для Москвы и Московской области. Учитывая территориальную привязанность места отбора исследуемых грунтов, расчет стоимости проведем по МРР-3.3.02-23.

На итоговую стоимость проведения полного комплекса анализов влияет множество факторов: категория сложности территорий (по МРР), расстояние от базы изыскательской организации до участка проведения отбора, тип объекта – площадной или линейный, проведение работ на территориях и акваториях с специальным режимом, коэффициенты срочности объекта, *коэффициент инфляции* в настоящем квартале года, является ли объект – госзаказом, и в особенности – глубина отбора грунта и отбор в *благоприятный/неблагоприятный период времени*. Однако для понимания «чистой» стоимости полного комплекса анализов, в расчётах опустим все сопутствующие виды работ, не имеющие отношения к непосредственно отбору проб, проведению лабораторных анализов и камеральной обработки результатов.

При следующих условиях: категории сложности территории – II, наиболее распространенной в пределах территории Москвы, а также благоприятном периоде (с 01.04 по 19.10), в отсутствии влияния всех остальных факторов, за исключением коэффициента инфляции по состоянию II квартала 2025 года (то есть минимальные по сложности условия) влияние глубины отбора на итоговую цену отсутствует, проведем расчет (см. приложение 3). В результате стоимость складывается из трех видов работ: полевых – 391,02 р.; лабораторных – 5 271,62 р.; камеральных – 1 275,73 р., а с учетом коэффициентов инфляции итоговая стоимость с проведением анализов для подтверждения класса опасности методами биотестирования с применением двух тест-культур *Scenedesmus quadricauda* и *Daphnia magna* составит 52 419,39 р. При неблагоприятном периоде времени – 52 862,49 р. При этом итоговая стоимость проведения анализа методами биотестирования из 52 419,42 р., составляет – 19 241,79 р. Таким образом, с учетом проведения полевых работ с отбором образцов для всех необходимых видов анализа, но при смене последовательности проведения химических и экотоксикологических исследований, чистая экономия для одной пробы по состоянию на II квартал 2025 года составит 32 786,61 р.

⁸ СП 502.1325800.2021 Инженерно-экологические изыскания для строительства. М.: Минстрой России, 2021. 150с.

⁹ Комитет города Москвы по ценовой политике в строительстве и государственной экспертизе проектов. Московские региональные рекомендации. Сборник 3.3 «Инженерно-экологические изыскания. МРР-3.3.02-23», 2023, 37с.

При аналогичной ситуации, но по состоянию на I квартал 2023 года стоимость работ без учета биотестирования составит 22 001,31 р., а с проведением – 35 055,07. Таким образом при смене методики проведения анализов экономия составила бы 21 551,59р.

Однако для понимания полной стоимости проведения оценки класса опасности в реальных условиях, при аналогичных параметрах категории сложности (II) и благоприятном периоде проведения работ, с учетом всех сопутствующих коэффициентом и пунктов сметной стоимости стоимость анализа пробы грунта с глубины в 1 метр (например, при проходке кабеля) составит - 127 342,24р.; с глубины в 7 метров (прокладка канализации, кабелей, строительство фундаментов) – 160 904,20р.; с глубины в 30 метров (строительство линий метрополитена) - 261 589,91 р.

При этом, с учетом дешевизны оборудования и менее требовательных условий проведения экотоксикологических исследований планшетным аппликатным методом в отличие от элюатного (с применением культур гидробионтов *Scenedesmus quadricauda* и *Daphnia magna*) стоимость экотоксикологического анализа будет существенно ниже, соответственно и итоговая стоимость проведения анализа уменьшится.

Таким образом, интеграция планшетного аппликатного метода фитотестирования и оценки микробиологической активности в государственную систему определения класса опасности отходов не только повысит точность выявления биологически значимых загрязнений, но и обеспечит существенную экономическую выгоду. Экотоксикологические исследования, проведенные на начальном этапе, позволяют сократить количество проб, направляемых на дорогостоящий химико-аналитический анализ. При этом средняя стоимость биотестирования одной пробы значительно меньше, чем химического анализа, а использование планшетного аппликатного метода снизит затраты еще больше благодаря своей простоте, экспрессности и доступности расходных материалов.

Выводы к главе 6

- Существующая на сегодняшний день система оценки класса опасности грунтов, как отходов строительной деятельности не позволяет достоверно оценить биологическую значимость. Предложенная модель определения класса опасности имеет ряд преимуществ, в числе которых более высокая точность и достоверность результатов. Включение обязательных экотоксикологических исследований перед анализом химического состава, расширение методов биотестирования за счет планшетного аппликатного фитотестирования и оценки микробиологической активности позволяет выявить скрытые формы загрязнения, не обнаруживаемые традиционными элюатными методами. Проведенные эксперименты

подтвердили работоспособность предложенной модели, особенно в отношении песчано-глинистых грунтов, как сложных многокомпонентных систем. Интеграция данного подхода в государственную систему оценки класса опасности обеспечит более надежную защиту окружающей среды при обращении с отходами строительной деятельности.

2. Предложенные изменения в государственную систему определения класса опасности грунтов, как отходов строительной деятельности не только повысят точность выявления биологически значимых загрязнений, но и будут целесообразны с экономической точки зрения. Экотоксикологические исследования, проведенные на начальном этапе, позволяют сократить количество проб, направляемых на дорогостоящий химико-аналитический анализ. При этом средняя стоимость биотестирования одной пробы значительно меньше, чем химического анализа, а использование планшетного аппликатного метода снижает затраты еще больше благодаря своей простоте, экспрессности и доступности расходных материалов.

Исходя из результатов диссертационного исследования, изложенных в главах 5 и 6, может быть сформулировано следующее защищаемое положение:

3. Первоочередное проведение аппликатного фитотестиования и учет хронической токсичности, обусловленной жизнедеятельностью микроорганизмов как биотической составляющей грунтовых систем, приводит к наиболее достоверному и точному определению биологической значимости уровня и состава загрязнения в песчано-глинистых грунтах как отходах строительной деятельности, а также позволяет существенно сократить экономические и временные затраты на определение класса опасности при оценке больших объемов грунтов.

Заключение

В ходе настоящего исследования была реализован комплексный подход к оценке класса опасности песчано-глинистых грунтов как отходов строительной деятельности, с акцентом на выявление биологически значимых загрязнений, недоступных для регистрации традиционными элюатными и химико-аналитическими методами. Целью исследования было повышение точности оценки класса опасности грунтов, как объектов исследований. Для достижения поставленной цели был применен многокомпонентный подход, включающий оценку состава и свойств грунтов, а также анализ их микробиологической активности; проведение фитотестирования планшетным аппликатным методом и биотестирования на водных организмах.

Для выполнения экспериментальной части были отобраны четыре типа грунтов: мелкий неоднородный песок с бывшей территории автомобилестроительного предприятия, пылеватая супесь пластичная с места расширения улично-дорожной сети, песок средний неоднородный с участка строительства линии московского метрополитена, а также пылеватый легкий тугопластичный суглинок с территории бывшей свалки и чистые кварцевые пески, используемые для приготовления референтных (контрольных) грунтов.

Основным инструментом оценки токсичности исследуемых сред стал масштабный лабораторный эксперимент по планшетному аппликатному фитотестированию, в рамках которого было проведено 252 единичных фитотестов, высажено 2720 семян двух тест-культур — горчицы белой (*Sinapis alba*) и сорго сахарного (*Sorghum saccharatum*), а также оценке наличия микробного токсикоза, в рамках которого было проведено 94 единичных фитотестов, высажено 940 семян культуры кress-салата (*Lepidium sativum*). Помимо этого, было проведено элюатное биотестирование с использованием двух тест-объектов — раков *Daphnia magna* (700 единиц) и зеленой водоросли *Scenedesmus quadricauda*. В ходе эксперимента измерялись и статистически обрабатывались более 7000 значений морфометрических параметров для растений (всходесть, длина корня и ростка), а также проводилась параллельная оценка выживаемости гидробионтов и интенсивности флуоресценции хлорофилла для водорослей.

Особое внимание было уделено сравнительному анализу между элюатным и аппликатным способами биотестирования, поскольку классические (наиболее распространенные в рамках инженерно-экологических изысканий) методики часто приводят к недооценке токсичности за счет неполного перехода части соединений при приготовлении водной вытяжки.

Также было показано, что микробиологическая активность в загрязненных грунтах может служить важным маркером хронической токсичности. Это подчеркивает необходимость расширения спектра экотоксикологических исследований и включения оценки

микробиологической активности, которая напрямую влияет на направление дальнейшего использования грунтов и уровень экологической опасности их состава и свойств в новых условиях применения.

Результаты исследований позволили предложить модифицированную модель определения класса опасности грунтов, в которой этап анализа экотоксикологическими методами становится первичным и определяющим, а химический анализ проводится только в случае выявления токсического эффекта. Данный подход обеспечивает не только более высокую чувствительность и объективность оценки, но и экономическую целесообразность, так как снижает объем дорогостоящих химико-аналитических работ. Предложенная модель имеет научное и практическое обоснование, соответствует современным требованиям к обращению с отходами и открывает возможность для ее интеграции в нормативно-методическую базу.

Таким образом, предложенный подход к оценке класса опасности грунтов обеспечивает более точное соответствие реальным условиям взаимодействия с биотой, чем традиционные химико-расчётные методы, и должен быть внедрен в практику инженерно-экологических изысканий с целью повышения экологической безопасности при обращении с грунтами, изымаемыми в ходе строительной деятельности.

В соответствии с целью и задачами данного исследований были сделаны следующие основные выводы.

1. Анализ современных подходов к оценке класса опасности грунтов как отходов выявил доминирование химико-аналитических методов (атомно-абсорбционная спектрометрия, газовая хроматография), которые, несмотря на высокую точность, не учитывают биодоступность загрязнителей, синергетические эффекты и влияние на биоту. Нормативная база (ГОСТ 17.4.1.02-2017, СанПиН 2.1.7.1287-03, СП 502.1325800.2021) фокусируется на ограниченном перечне нормированных веществ (менее 0,01% от известных загрязнителей), игнорируя микробиологическую активность и хроническую токсичность. Существующие на сегодняшний день методические разработки для экспериментального подтверждения установленного класса опасности отходов проводятся преимущественно в отношении эллюатных методов биотестирования. При этом экотоксикологические методы, подразумевающие контакт с грунтом, пока остаются только в роли рекомендательных или разрешенных к применению.

2. Современная система установления класса опасности грунтов, образующихся в ходе строительной деятельности, обладает рядом существенных недостатков, снижающих точность и объективность оценки. Основная проблема заключается в преобладании узкого химико-аналитического подхода, который не учитывает комплексное воздействие загрязняющих веществ на живые организмы (биоту). Действующие нормативные документы делают основной

акцент на определение предельно допустимых концентраций отдельных загрязнителей, игнорируя при этом их биодоступность, синергетические эффекты и влияние на биологическую составляющую грунтов. Микробиологическая активность, являющаяся чувствительным индикатором токсического воздействия, практически не учитывается при установлении класса опасности отходов, и грунтов, в частности. К недостаткам действующего подхода относится «рекомендательный» характер оценки хронической токсичности, которая в грунтовой системе в значительной мере зависит от биологической компоненты. Существенные противоречия наблюдаются и в самой нормативной базе. Различные документы содержат неоднозначные критерии оценки, что создает предпосылки для принятия субъективных решений.

3. Для проведения экспериментальных исследований были отобраны песчано-глинистые грунты с территорий действующих строительных площадок в пределах города Москвы. По результатам химического анализа было выявлено превышение ПДК/ОДК в некоторых образцах. По их результатам, наиболее загрязненным грунтом оказался песок мелкий неоднородный, отобранный с территории бывшего автомобилестроительного предприятия. В пробах данного грунта отмечалось 10-кратное превышение ПДК/ОДК для бензапирена, 3-х кратное превышение нормы для свинца (Pb) и превышение фонового содержания для меди (Cu) и цинка (Zn). Аналогичное превышение фонового содержания отмечалось в образцах супеси пылеватой пластичной (место отбора - территория строительства улично-дорожной сети), в отношении меди (Cu) и ртути (Hg), и в образцах суглинка пылеватого легкого тугопластичного (место отбора - бывшая территория свалки), в отношении цинка (Zn). Для приготовления контрольного (референтного) грунта использовались чистые кварцевые пески в смеси с каолиновой глиной. Тест-объектами при проведении биотестирования выступили: культуры высших растений горчица белая (*Sinapis alba*), сорго сахарное (*Sorghum saccharatum*) и крестоцветные (Lepidium sativum); гидробионты – ракчи (*Daphnia magna*) и зеленые протококковые водоросли (*Scenedesmus quadricauda*).

4. При оценке класса опасности отобранных грунтов, согласно действующему государственному регламенту, было установлено, что все исследуемые образцы песчано-глинистых грунтов (мелкий неоднородный песок, пылеватый легкий тугопластичный суглинок, супесь пылеватая пластичная и песок средний неоднородный) по результатам химико-аналитического метода могут быть отнесены к V классу опасности — практически неопасные отходы. По результатам экспериментального подтверждения методами элюатного биотестирования с применением *Daphnia magna Straus* и *Scenedesmus quadricauda*, во всех пробах также не было выявлено признаков острой токсичности, что подтверждало присвоение V класса опасности. Вместе с тем, эксперименты с использованием планшетного аппликатного фитотестирования продемонстрировали существенное различие: для образцов суглинка

пылеватого легкого тугопластичного и мелкого неоднородного песка наблюдалось угнетение развития корневой системы тест-культур горчицы белой (*Sinapis alba*) и сорго сахарного (*Sorghum saccharatum*) выше 20% — порога, принятого в экотоксикологии как критерий перехода от V к IV классу опасности. При этом эффект был наиболее выражен при непосредственном контакте семян с грунтом, что указывает на ограничения традиционных методов, исключающих взаимодействие с твердой фазой грунта за счет использования водной вытяжки. Микробиологическая активность, изученная в рамках данного исследования, также выявила наличие хронической токсичности в большинстве исследуемых проб, что указывает на значимость ее определения. Особенно выраженным этот показатель оказался в образцах мелкого песка с территории бывшего автомобилестроительного предприятия и суглинка пылеватого, отобранного с территории бывшей свалки. Таким образом, по результатам дополнительно проведенных экотоксикологических исследований было рекомендовано присвоение образцам суглинка и песка мелкого IV класса опасности, а песка средней крупности и супеси – V класса. Также в отношении всех грунтов рекомендуется проведение рекультивационных мероприятий, направленных на снижение микробиологической активности, вызванной жизнедеятельностью патогенной в отношении высших растений микробиотой.

5. Была проверена работоспособность и эффективность действующей модели определения класса опасности грунтов с целью ее оптимизации и повышения точности оценки. Проведенные исследования позволили выявить необходимость ряда усовершенствований, таких как включение обязательных экотоксикологических исследований перед анализом химического состава, расширение методов биотестирования за счет планшетного аппликатного фитотестирования и оценки микробиологической активности, позволяющие выявить скрытые формы загрязнения, не обнаруживаемые традиционными элюатными методами. Также рекомендуется при реализации планшетного аппликатного метода фитотестирования исключение использования фильтровальной бумаги для обеспечения «безбарьерного» доступа токсичных соединений, адсорбированных на поверхности твердых частиц грунта и учета влияния микробиологической составляющей. Для повышения точности и эффективности исследований рекомендуется интегрировать в систему биодиагностики полуавтоматические и автоматические системы анализа, а также унифицировать систему пробоотбора. Расчет класса опасности предлагается проводить на основе комплексного анализа всех полученных данных.

Список литературы

1. Алексеева Т. В., Сапова Е. В., Герасименко Л. М., Алексеев А. О. Преобразование глинистых минералов под воздействием алкалофильного цианобактериального сообщества // Микробиология. 2009. Т. 78, № 6. — С. 816-825.
2. Амосов, Д. А., Максимов А. Ю., Пикунова Т. Ю. Приморская городская свалка как источник загрязнения окружающей среды радионуклидами и тяжелыми металлами // Российский геофизический журнал. – 2000. – № 17–18. — С. 90–102.
3. Артемьева Т.И., Жеребцов А.К., Борисович Т.М. Влияние загрязнения почвы нефтью и нефтепромысловыми сточными водами на комплекс почвенных животных // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. М.: Наука, 1988. — С. 82-99.
4. Аристовская Т. Н. Микробиология процессов почвообразования. // Л.: Наука, 1980. С. 187
5. Ашихмина Т. В. Геоэкологический анализ состояния окружающей среды и природоохранные рекомендации в районе расположения полигонов ТБО Воронежской области. Автореф. дис. канд. геог. н. М., 2014. — С. 25.
6. Ахметкерим А., Кирбаева Д., Садвакасова А., Заядан, Б., Акмуханова Н., Бауенова М., Сарсекеева Ф. Влияние концентрации соли на рост и продуктивность штамма микроводорослей *Scenedesmus obliquus* sp. B7. Микробиология және вирусология, 1(40), 2023, — С. 139–153. DOI 10.53729/MV-AS.2023.01.09
7. Багдасарян А. С. Биотестирование почв техногенных зон городских территорий с использованием растительных организмов: дис. канд. биол. н. – Ставрополь, Ставропольский государственный университет, 2005. — С. 159.
8. Бородина А. В., Некрасова Р. С. Статистические критерии в анализе данных. // Издательство ПетрГУ, 2023. – С. 45.
9. Болотина И.Н. Физико-химические явления с участием биотического компонента // Теоретич. основы инж. геологии. Физико-хим. основы / Под ред. Сергеева Е. М., М.: Недра, 1985. — С. 65-70.
10. Бабкина Л.А., Лукьянчиков Д.С., Лукьянчикова О.В. Особенности аккумуляции тяжелых металлов листьями подорожника большого (*Plantago major L.*) в условиях урбанизированных территорий. // Самарский научный вестник, Том 7, №1, 2018, — С. 19-24, DOI 10.17816/snv201871102
11. Беляева Н. С. Продажа отходов в целях утилизации // Твердые бытовые отходы. – 2022. – № 12(198). — С. 42-45.
12. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / Мелехова О. П., Сарапульцева Е. И., Евсеева Т. И. [и

- др.]; под ред. Мелеховой О. П. и Сарапульцевой Е. И. – 2-е изд., испр. – М.: Издательский центр «Академия», 2008, — С. 228.
13. Битюцкий Н. П. Минеральное питание растений: учебник. — СПб.: Изд-во С.-Петербург, 2014. — С. 540.
 14. Бурдина В. М., Терехова В. А. Анализ эффективности методик биотестирования в экологической оценке загрязненных почв и отходов различного происхождения // Проблемы биодеструкции техногенных загрязнителей окружающей среды. Мат-лы межд. конф. Саратов, 2005 — С. 125–126.
 15. Воробейчик Е. Л., Садыков О. Ф., Фарафонтов М. Г. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем (локальный уровень). – Екатеринбург: УИФ "Наука", 1994, — С. 280.
 16. Гайнутдинов М. З., Гилязов М. Ю., Хромов И. Т. Изменение органических свойств почв под влиянием нефтепромысловых сточных вод и их рекультивация // Агрохимия. №7. 1982. — С. 11-116.
 17. Геннадиев А. Н., Пиковский Ю. И. Карты устойчивости почв к загрязнению нефтепродуктами и полициклическими углеводородами: метод и опыт составления // Почвоведение. 2007. №1. — С.80-92.
 18. Гиляров М. С., Криволуцкий Д. А. Жизнь в почве / отв. ред. Воронов А. Г. - 3-е изд. - Ростов-на-Дону : Изд-во Рост. ун-та, 1995. – С. 238.
 19. Грунтоведение: учеб. для студентов вузов, обучающихся по геол. специальностям / Трофимов В. Т. [и др.]; под ред. В. Т. Трофимова - 6-е изд., перераб. и доп. – М.: Изд-во Моск. Ун-та : Наука, 2005. – С. 1023.
 20. Григорьева И. Ю., Морозов А. В., Садов С. С. Биодиагностика экологического состояния дисперсных грунтов // Фундаментальные и прикладные вопросы современного грунтоведения. Сергеевские чтения: Матер. годичной сессии Научного Совета РАН по проблемам геоэкологии, инженерной геологии и гидрогеологии (31 марта - 01 апреля 2022 г.). — Т. 23. — ГеоИнфо Москва, 2022. — С. 355–361.
 21. Григорьева И. Ю., Садов С. С. Совершенствование методики оценки класса опасности грунтов в системе обращения с отходами: новые подходы и практические рекомендации // Инженерные изыскания. — 2024. — Т. 18, № 1. — С. 26–41. DOI 10.25296/1997-8650-2024-18-1-26-40
 22. Григорьева И. Ю., Садов С. С. Роль микробного токсикоза глинистых грунтов при экотоксикологической оценке класса их опасности // Материалы X Международной научной конференции молодых ученых «Молодые - Наукам о Земле», серия Развитие новых идей и тенденций в науках о Земле гидрогеология, геоэкология, строительство систем и сооружений

- водоснабжения и водоотведения (31 марта - 01 апреля 2022 г.). — Т. 3. — Издательство РГГУ им. Серго Орджоникидзе Москва, 2022. — С. 243-247.
23. Григорьева И. Ю., Сарженко М. Н. О биотестировании загрязненных грунтов при инженерно-экологических изысканиях // Геоинфо. Электронный журнал. — 2018. № 12. [Электронный ресурс].
24. Григорьева И. Ю., Садов С. С., Морозов А. В. Грунты в действующей системе обращения с отходами // Отходы и ресурсы. — 2024. — Т. 11, № 1. — С. 1–17. DOI 10.15862/16NZOR124. [Электронный ресурс].
25. Григорьева И. Ю., Федосеева Е. В., Морозов А. В., Садов С. С. О необходимости изменения подходов к оценке классов опасности грунтов-отходов // Геоинфо. Электронный журнал, — 2019. № 26. [Электронный ресурс].
26. Григорьева И. Ю., Морозов А. В., Садов С. С., Федосеева Е. В. Биодиагностика экологических последствий углеводородного загрязнения песчаных грунтов // сборник материалов VI Международной научно-практической конференции «Экологическая геология: теория, практика и региональные проблемы». Севастополь, 2019 г., изд. Воронеж, Т. 1, — С. 187-191.
27. Григорьева И. Ю., Шестакова А. Н. Фитотоксичность нефтезагрязненных грунтов // Инженерная геология. — 2009. — Март. — С. 30–33.
28. ГОСТ 30772-2001 "Ресурсосбережение. Обращение с отходами. Термины и определения" // ИПК Издательство стандартов, 2002, — С. 20.
29. ГОСТ Р ИСО 22030-2009 «Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений» // Стандартинформ, 2010, — С. 20.
30. ГОСТ Р 56207-2014 "Оборудование для переработки отходов. Общие технические требования" // Стандартинформ, 2015, — С. 23.
31. ГОСТ 17.4.1.02-2017 «Охрана природы. Почвы. Классификация химических веществ для контроля загрязнения» // Стандартинформ, 2018, — С. 23.
32. ГН 2.1.7.2041—06 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве»: Гигиенические нормативы. — М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. — С. 15.
33. ГН 2.1.7.2511—09 «Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве»: Гигиенические нормативы.—М.:Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009 .— С. 10.
34. Дашко Р. Э. Власов Д. Ю., Шидловская А. В. Геотехника и подземная микробиота // Санкт-Петербург: Институт "ПИ Геореконструкция", 2014. — С. 279.
35. Давлетшин Т. З. Культура сорго в Татарстане. Казань, 1999. — С. 193.

36. Демиденко Б. Г. Сорго. Москва: Сельхозгиз, 1957. – С. 158.
37. Донияров Н. А. Специфические особенности механизмов взаимодействия в системе среда-минерал-микроорганизм // Universum: технические науки: электрон. научн. журн. 2020. 11(80). [Электронный ресурс] — URL: <https://7universum.com/ru> - (дата обращения: 04.05.2023).
38. Дорофеев В. И. Сем. Cruciferae (Brassicaceae) центральной зоны Европейской части Российской Федерации. // Turchaninowia. - Барнаул, 1998. - Т. 1, часть 3. – С. 94.
39. Дмитриев Е. А. Теоретические и методологические проблемы почвоведения. // М.: ГЕОС, 2001. — С. 374.
40. Жмур Н. С. Государственный и производственный контроль токсичности методами биотестирования в России. М.: Международный дом сотрудничества, 1997. — С. 114.
41. Закон города Москвы от 30 ноября 2005 года № 68 "Об отходах производства и потребления в городе Москве", с изм. 2022, — С. 13 [Электронный ресурс].
42. Замотаев И. В., Иванов И. В., Михеев П. В., Белобров В. П. Оценка состояния почв и растительности в районах размещения свалок и полигонов твердых бытовых отходов (обзор) // Почвоведение, ФГБУ "Издательство "Наука", 2018, № 7, — С. 907–924, DOI: 10.1134/s0032180x18070109
43. Заварзин Г. А. Литотрофные микроорганизмы. М.: Наука, 1972. — С. 156.
44. Звягинцев Д. Г., Бабьева И. П., Зенова Г. М. Биология почв: Учебник. — 3-е изд., испр. и доп. — М.: Изд-во МГУ, 2005. — С. 445, (Серия «Классический университетский учебник»).
45. Звягинцев Д. Г. Взаимодействие микроорганизмов с твердыми поверхностями. М.: Изд-во МГУ, 1973. — С. 176.
46. Иванов П. В. Изменение состава, строения и свойств дисперсных грунтов при активизации их природного микробного комплекса. Автореф. дис. канд. геог. н. М., 2015. — С.24.
47. Ильин Н. П., Калачникова И. Г., Каркишко Т. И., [и др.]. Наблюдения за самоочищением почв от нефти в средней и южной тайге // Добыча полезных ископаемых и геохимия природных экосистем. М.: Наука, 1982, — С. 245-270.
48. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. / K12 // Микроэлементы в почвах и растениях: Пер. с англ. - М.: Мир, 1989. — С. 439.
49. Киреева Н. А., Новоселова Е. И., Ямалетдинова Г. Ф. Диагностические критерии самоочищения почв от нефти // Экология и промышленность России (ЭКИП): ежемесячный общественный научно-технический журнал / Российская академия наук; Московский институт стали и сплавов (Технологический университет) – М. – 2001. – №12 – С. 34-35.
50. Корнейкова М.В., Никитин Д.А. Почвенный микробиом в зоне воздействия выбросов горно-металлургического комбината Печенганикель (Мурманская область) // Почвоведение, 2023, № 5, — С. 676-688. DOI 10.31857/S0032180X22600883

51. Константинов А. С. Общая гидробиология: Учеб, для студентов биол. спец, вузов. — 4-е изд., перераб. и доп.— М.: Высш, шк., 1986.— С. 472.
52. Комитет города Москвы по ценовой политике в строительстве и государственной экспертизе проектов. Московские региональные рекомендации. Сборник 3.3 «Инженерно-экологические изыскания. МРР-3.3.02-23», 2023,— С. 37.
53. Куриленко В. В. Основы экогеологии, биоиндикации и биотестирования водных экосистем - СПб. Изд-во СПбГУ. 2004, — С. 480.
54. Кунаков К. О. Противоречия в законодательстве и оценка категорий загрязнения почв тяжелыми металлами на стадии инженерно-экологических изысканий // Вестник государственной экспертизы. – 2017. – № 3. – С. 96-99.
55. Лабораторные работы по грунтоведению: уч. пособие / Королёв В. А., Трофимов В. Т., Самарин Е. Н., [и др.]; под ред. В. Т. Трофимова и В. А. Королёва, изд. 3-е испр. и доп — КДУ Москва, 2017. — С. 654.
56. Ларин И. В., Ларина В. К. Кормовые растения сенокосов и пастбищ СССР: в 3 т. / под ред. И. В. Ларина. — М.; Л.: Сельхозгиз, 1951. — Т. 2: Двудольные (Хлорантовые — Бобовые). — С. 459-948.
57. Лисовицкая О. В., Терехова В. А. Фитотестирование основные подходы, проблемы лабораторного метода и современные решения. Москва: Изд. МГУ: «Доклады по экологическому почвоведению». 2010, №1, вып. 13, — С. 18.
58. Маячкина Н. В. Чугунова М. В. Особенности биотестирования почв с целью их экотоксикологической оценки // Вестник Нижегородского университета им Н.И. Лобачевского. - 2009. — С. 84-93.
59. Максимович Н. Г., Хмурчик В. Т. Влияние микроорганизмов на минеральный состав и свойства грунтов // Геология. Вестник Пермского Университета Вып. 3, 2012 — С. 47-54.
60. Манько А. В. Строительная площадка, как источник загрязнения воздушной среды городских территорий // Инженерный вестник Дона [электронный журнал], №2, 2024, — С. 8 [Электронный ресурс] — URL: <http://ivdon.ru/ru/magazine/archive/n4y2017/4599> - (дата обращения: 26.02.2025).
61. Манжилевская С. Е., Еманов Е. О., Цзиньлэй И. О проблемах присутствия на площадках строительства нефтезагрязненных грунтов в городе Москве // Инженерный вестник Дона [электронный журнал], №4, 2017, — С. 8 [Электронный ресурс] — URL: <http://ivdon.ru/ru/magazine/archive/n4y2017/4599> - (дата обращения: 24.05.2023).
62. «Методика выполнения измерений всхожести семян и длины корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно-загрязненных почв» / Капелькина Л. П., Бардина Т. В., Бакина Л. Г., [и др.]; СПб: Изд-во «Фора-принт», 2009. — С. 19.

63. Мирзоян А. В. Создание и апробация генетико – биохимической тест системы для мониторинга мутагенности окружающей среды с использованием листьев древесных растений: дис. канд. биол. наук. – Ростов н/Д., 2001, – С. 125.
64. Мирчинк Т. Г. Почвенная микология: Учебник. — М.: Изд-во МГУ 1988 — С. 220.
65. МР 2.1.7.2297-07. Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности. Методические рекомендации –Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2007, — С. 15.
66. Министерство природных ресурсов и экологии Российской Федерации. Приказ от 4 декабря 2014 г. № 536 «Об утверждении критериев отнесения отходов к I - V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду». [Электронный ресурс].
67. Министерство природных ресурсов и экологии Российской Федерации. Приказ от 1 сентября 2011 года №721 «Об утверждении Порядка учёта в области обращения с отходами». [Электронный ресурс].
68. Никитин Д. А., Семенов М. В., Чернов Т. И., [и др.]. Микробиологические индикаторы экологических функций почв (обзор) // Почвоведение, 2022, № 2, — С. 228-243, DOI: 10.31857/S0032180X22020095
69. Никитин В. В. Сорные растения флоры СССР. // Л.: Наука, 1983. — С. 454.
70. Охрана окружающей среды в России. 2022: Стат. сб./Росстат. – 0-92 М., 2022. – С. 115, [Электронный ресурс] — URL: <https://www.mnr.gov.ru> – (дата обращения 16.08.2023).
71. О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2022 году. Государственный доклад. – М.: Мин.прир. России; МГУ имени М. В. Ломоносова, 2023. – С.686.
72. О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2021 году. Государственный доклад. – М.: Мин.прир. России; МГУ имени М. В. Ломоносова, 2022. – С.684.
73. Песчаные грунты России: в 2-х томах. Том 1 / Трофимов В. Т., Королёв В. А., Балыкова С. Д. [и др.]; под ред. В.Т. Трофимова. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 2021. — С. 394.
74. Плеханова И. О., Золотарева О. А., Тарабенко И. Д., Яковлев А. С. Оценка экотоксичности почв в условиях загрязнения тяжелыми металлами // Почвоведение, 2019, №10, – С.1243–1258, DOI: 10.1134/S0032180X19100083
75. Пискункова Н. Ф., Пименова М. Н. Влияние pH среды и углекислоты на ассимиляцию некоторых органических кислот *scenedesmus guadricauda* // Микробиология. — 1970. — Т. 39, № 6. — С. 970–973.
76. Планариум. [Электронный ресурс] — URL: <https://www.planarium.ru> – (дата обращения 16.10.2024).
77. Подлипский И. И. Характеристика полигонов бытовых отходов как объектов геологического исследования // Вестник СПбГУ, Сер. 7, 2010, вып. 1. — С. 15-31.

78. Постановление «О федеральной целевой программе "Отходы"», Правительство России. [Электронный ресурс] — URL: <http://government.ru> – (дата обращения 11.03.2024).
79. Практикум по агрохимии: Учеб. пособие. - 2-е изд., перераб. и доп./ Под ред. академика РАСХН В.Г. Минеева. – М.: Изд-во МГУ, 2001, — С. 689.
80. Приказ Минприроды России № 1021 от 07.12.2020 «Об утверждении Методических указаний по разработке проектов нормативов образования отходов и лимитов на их размещение» [Электронный ресурс] — URL: <http://government.ru> (дата обращения 12.03.2024).
81. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04. «Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris Beijer*) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления» // ФБУ «ФЦАО», 2014, — С. 38.
82. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.12-06. «Методика измерений количества *Daphnia magna* Straus для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления методом прямого счета» // ФБУ «ФЦАО», 2014, — С. 39.
83. ПНД Ф Т 14.1:2:4.19 2013. «Методика определения токсичности питьевых, грунтовых, поверхностных и сточных вод, растворов химических веществ по измерению показателей всхожести, средней длины и среднего сухого веса проростков семян кress-салата (*Lepidium sativum*)» // ФБУ «ФЦАО», 2013 — С. 28.
84. Романова О. В. Использование фитотестирования при оценке токсичности почв и снеговой воды // Мат. межд. заоч. науч. конф. «Проблемы современной аграрной науки». – Красноярск: Изд-во Красноярского государственного аграрного университета, 2009, — С. 70-75.
85. Росприроднадзор. Федеральный классификационный каталог отходов. [Электронный ресурс] — URL: <https://grn.gov.ru> – (дата обращения 23.02.2025).
86. Россинская М. В., Россинский Н. П. Элементы экологического мониторинга, их краткая характеристика и влияние на качество окружающей среды и здоровье населения региона // Инженерный вестник Дона [электронный журнал]. 2012. № 1. [Электронный ресурс] — URL: <http://ivdon.ru/ru/magazine/archive/n1y2012/668> - (дата обращения: 15.05.2023).
87. РД 64-085-89 «Методические указания. Методические основы биотестирования и определения генетической опасности отходов, поступающих в окружающую среду», 1990 [Электронный ресурс].
88. Садов С. С., Григорьева И. Ю., Федосеева Е. В. Влияние методики эксперимента на результаты фитотестирования при оценке класса опасности грунтов как отходов // Труды XX Международной научно-практич. конференции "Актуальные проблемы экологии и природопользования" / в 2-х томах, Изд-во РУДН. Т 1, Москва, 2019 г. — С. 330-334.

89. Садов С. С., Григорьева И. Ю. К вопросу о необходимости учета микробиологической составляющей при экотоксикологической оценке грунтов как отходов строительной деятельности // Инженерные изыскания. – 2023. – Т. 17, № 4. – С. 64-72. – DOI 10.25296/1997-8650-2023-17-4-64-72
90. Савич В. И., Мосина Л. В., [и др.]. Микробиологическая активность почв как фактор почво-образования // Международный сельскохозяйственный журнал. — 2019. — № 1. — С. 38.
91. СанПиН 2.1.7.1287—03. Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы: Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. — М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.— С.16.
92. Сиромля Т. И., Загурская Ю. В. Проблемы исследования процессов аккумуляции и гипераккумуляции растениями химических элементов. // Журнал общей биологии, 2021, Т. 82, № 4, С. 283-296, DOI 10.31857/S0044459621030076
93. Созина И. Д., Данилов А. С. Микробиологическая ремедиация нефтезагрязненных почв // Записки Горного института. 2023. Т. 260. С. 297-312, DOI 10.31897/PMI.2023.8
94. Степановских А. С. Биологическая экология. Теория и практика: учебник для студентов вузов, обучающихся по экологическим специальностям / М.: ЮНИТИ-ДАНА, 2017. - С. 791.
95. СП 502.1325800.2021 Инженерно-экологические изыскания для строительства. -М.: Минстрой России, 2021. — С. 150.
96. СП 47.13330.2016 Инженерные изыскания для строительства. Основные положения. Актуализированная редакция СНиП 11-02-96 (с Изм. № 1). М.: ФГБУ "РСТ", 2021, — С.120.
97. Судебные и нормативные акты РФ «Решение от 18 февраля 2022 г. по делу № А05-8304/2021» [Электронный ресурс] — URL.: <https://sudact.ru/> - (дата обращения 11.02.2024).
98. Терехова В. А. Биоиндикация и биотестирование в экологическом контроле // Использование и охрана природных ресурсов в России. Информационно-аналитический бюллетень, 2007, №1 (91), — С. 88-90.
99. Терехова В. А. Биотестирование почв: подходы и проблемы. // Почвоведение. 2011. №2. — С. 190-198.
100. Терехова В. А. Биотестирование экотоксичности почв при химическом загрязнении: современные подходы к интеграции для оценки экологического состояния (обзор) // Почвоведение № 5. 2022. — С. 586-599.
101. Терехова В.А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем / Ин-т проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Ин-т экологического почвоведения МГУ. - М. : Наука, 2007. – С. 215.
102. Тимофеева С. С. Современные методы экологической диагностики загрязнения почв // Вестник Иркутского Государственного Технического Университета. - 2011. - № 11. - С. 88-93.

103. Титов А. Ф., Казнина Н. М., Таланова В. В. Тяжелые металлы и растения. // Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. — С. 194.
104. Федосеева Е. В., Данилова О. А., Янукевич Е. А., Терехова В. А., Терешина В. М. Липиды микромицетов и стресс // Микробиология. — 2021. — Т. 90, № 1. — С. 43–63, DOI: 10.31857/S0026365621010043
105. Федосеева (Бандолина) Е. В., Сапункова Н. Ю., Терехова В. А. Практическая экотоксикология: оценка чувствительности биотест-культур: Учебное пособие/ Под ред. В.А. Тереховой /. — ГЕОС Москва, 2016. — С. 54.
106. Федосеева Е. В., Терехова В. А., Гладкова М. М., Учаов П. В. Требования национальных и международных стандартов к качеству культивационной воды в практике применения гидробионтов для оценки экологической токсичности // Использование и охрана природных ресурсов в России. — 2016. — № 4. — С. 44–49.
107. Федеральная служба государственной статистики. «Образование, использование, обезвреживание и размещение отходов производства и потребления в Российской Федерации», [Электронный ресурс] — URL.: <https://rosstat.gov.ru/> (дата обращения 10.02.2024).
108. Федеральная служба государственной статистики. «Образование отходов производства и потребления по видам экономической деятельности (по ОКВЭД2)» [Электронный ресурс] — URL.: <https://rosstat.gov.ru/> (дата обращения 11.02.2024).
109. Федеральный закон от 29.12.2004 г № 190-ФЗ Градостроительный кодекс Российской Федерации [Электронный ресурс].
110. Федеральный закон от 04.05.2011 № 99-ФЗ "О лицензировании отдельных видов деятельности" с изменениями от 08.08.2024 [Электронный ресурс].
111. Федеральный центр анализа и оценки техногенного воздействия [Электронный ресурс] — URL: <http://fcao.ru> - (дата обращения 17.12.2022).
112. Федеральный закон от 10.01.2002 г № 7-ФЗ Об охране окружающей среды (с изменениями на 30 декабря 2021 года) [Электронный ресурс].
113. Федеральный закон от 10.06.1998 г № 7-ФЗ Об охране окружающей среды (с изменениями на 19 июля 2019 года) [Электронный ресурс].
114. ФР.1.39.2006.02264 М-П-2006. «Методика выполнения измерений всхожести семян и длины корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно-загрязненных почв» // СПб.: ФГУП «Уральский НИИ метрологии», 2009, — С.19.
115. ФР.1.39.2007.03222. «Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний» // М.: АКВАРОС, 2007, — С. 51.

116. 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» // М.: АКВАРОС, 2007, — С. 47.
117. ФР.1.39.2015.19243 «Методика определения токсичности проб почв, донных отложений и осадков сточных вод экспресс-методом с применением прибора серии „Биотестер“» // М.: «Спектр-М», 2015, — С. 22.
118. Фомин Г. С., Фомин А. Г. Почва. Контроль качества и экологической безопасности по международным стандартам. Справочник. М: «Протектор», 2001, — С. 304.
119. Функционирование почв в меняющихся условиях окружающей среды / Терехова В.А., Шоба С.А. (отв. ред.) М.: ГЕОС, 2015. — С. 164.
120. Цепина Н. И., Колесников С. И. «Оценка чувствительности и информативности биологических показателей состояния почв для биодиагностики экотоксичности частиц серебра разного размера» // «Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения»: материалы IV международного симпозиума (Москва, 28–31 августа 2023 г.). — 2023. — С. 260–266.
121. Шеуджен А. Х. Биогеохимия. // Майкоп: ГУРИПП «Адыгея», 2003, — С. 1028.
122. Щекун Г. М., Культура сорго в СССР и её биологические особенности, М., 1964, — С. 140.
123. Щербаков А. В. Пластичность корреляционных связей между показателями основного и специализированного метаболизма растений как ответная реакция на непредсказуемость среды обитания // Известия Самарского научного центра РАН.- Изд-во Самарского научного центра РАН.- 2013.- Т 15, № 3 (1).- С. 366-371.
124. Экология микроорганизмов: Учеб. для студ. вузов / Нетрусов А. И., Бонч-Осмоловская Е.А., Горленко В. М., [и др.]; под ред. А. И. Нетруса. — М.: Издательский центр «Академия», 2004. – С. 272.
125. Юрк В. М., Зайцев О. Б., Зайцева А. В. / Основные предпосылки утилизации строительных отходов совместно с загрязненными почвами (грунтами)/ Вестник пермского национального политехнического университета. Прикладная экология. Урбанистика. 2020. —С. 68-84.
126. Aoyama I., Okamura H. and Rong L. Toxicity Testing in Japan and the Use of Toxkit Microbiotests // New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biomonitoring (G. Persoone, C. Janssen and W. De Coen, eds. - Kluwer Academic / Plenum Publishers) 2000, chapter 10 — P.123-133.
127. Abbas Z., Imran M., Natasha N., Murtaza B., Amjad M., Shah N.S., et al. Distribution and health risk assessment of trace elements in ground/surface water of kot addu, Punjab, Pakistan: A multivariate analysis. // Environ. Monit. Assess. 193, 2021, — P.351–362, DOI 10.1007/s10661-021-09150-7
128. Ahmad S., Imran M., Murtaza B., Arshad M., Nawaz R., Waheed A., et al. Hydrogeochemical and health risk investigation of potentially toxic elements in groundwater along River Sutlej floodplain

- in Punjab, Pakistan. // Environ. Geochem. Health 43, 2021, P.5195–5209, DOI 10.1007/s10653-021-00941-y
129. Alwan S. W. Bioassay of crude oil toxicity in soil and Vecia Faba L. plant // Plant Archives. 2018. V. 18. No. 2. — P. 2573-2579.
130. Biofilms of anammox bacteria on mineral carriers to establish a subterranean permeable barrier / Popova N., Vishnyakova A., Artemiev G., [et al.] // International Journal of Environmental Science and Technology. — 2023. — Vol. 20. — P. 2159–2170, DOI 10.1007/s13762-022-04131-w
131. Bio-zeolite use for metal removal from copper-containing synthetic effluents / Zinicovscaia I., Yushin N., Grozdov D., [et al.] // Journal of environmental health science and engineering. — 2021. — Vol. 19, no. 2. — P. 1383–1398, DOI 10.1007/s40201-021-00694-x
132. Biogeochemical permeable barrier based on zeolite and expanded clay for immobilization of metals in groundwater / Popova N., Artemiev G., Zinicovscaia I., [et al.] // Hydrology. — 2023. — Vol. 10, no. 1. — P. 4, DOI 10.3390/hydrology10010004
133. Blaise C. Canadian Application of Microbiotests to assess the Toxic Potential of Complex Liquid and Solid Media // New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biomonitoring (Persoone G., Janssen C. and De Coen W., eds. - Kluwer Academic / Plenum Publishers) 2000, chapter 1 — P.3-12.
134. Blogger, Bacterias Fijadoras de Nitrógeno en Costa Rica. [Электронный ресурс] — URL: <https://azotobacter-ina-tec.blogspot.com> — (дата обращения – 18.09.2024).
135. Bodar C. W. M., Kluytmans J. H., van Montfort J. C. P., Voogt P. A., Zandee D. I. Cadmium resistance and the synthesis of metallothionein-like proteins in *Daphnia magna*. // Proceedings, 3rd International Conference on Environmental Contamination, Edinburgh, UK, 1988, — P. 79–81.
136. Bossuyt B.T.A., Janssen C.R. Acclimation of *Daphnia magna* to environmentally realistic copper concentrations. // Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, Nov., 2003. 136: — P.253–264, DOI 10.1016/j.cca.2003.09.007
137. Chen C. Y., Stemberger R. S., Klaue B., Blum J. D., Pickhardt P. C., Folt C. L. Accumulation of heavy metals in food web components across a gradient of lakes. // Limnol Oceanogr, 2000, 45: — P. 1525–1536, DOI 10.4319/lo.2000.45.7.1525
138. Culture Collection of Algae of Charles University. [Электронный ресурс] — URL: <https://botany.natur.cuni.cz> — (дата обращения – 17.12.2024).
139. Czerniawska-Kusza I., Ciesielczuk T., Kusza G. and Cichon A. Comparison of the Phytotoxkit microbiotest and chemical variables for toxicity evaluation of sediments// 2006 Environmental Toxicology, Vol. 21, Iss. 4, P. 367-372.
140. David M., Levente K., Sandor A. P., Zsolt K. Applying Bioassays for Investigation of Soils from Suburban Green Sites // CSEE'20. Virtual Conference. 2020. No. ICEPTP 108. P. 1-6, DOI 10.11159/iceptp20.108

141. Eddouks M, Maghrani M; Zeggwagh NA; Michel JB (2005). "Study of the hypoglycaemic activity of *Lepidium sativum* L. aqueous extract in normal and diabetic rats". *J Ethnopharmacol* 97 (2): P. 391–395.
142. ENvironmental inFormation, [Электронный ресурс] — URL: <https://www.xn--krinfo-wxa.hu/en> – (дата обращения – 17.12.2024).
143. Epelde, L., Becerril, J. M., Mijangos, I., Garbisu, C. Evaluation of the efficiency of a phytostabilization process with biological indicators of soil health // *Journal of Environmental Quality*. — 2009. — Vol. 38, № 5. — P. 2041–2049, — DOI 10.2134/jeq2009.0006.
144. Expert. [Электронный ресурс] — URL: <https://raexpert.ru> – (дата обращения – 14.07.2023)
145. EPA 600/R-07/139 «Monitored Natural Attenuation of Inorganic Contaminants in Ground Water. Volume 1. Technical Basis for Assessment», 2007, — P.94.
146. Freeman JE, Watson SA Influence of sorghum endosperm pigments on starch quality. // *Cereal Sci Today*, 1971, 16: — P. 378.
147. Glover C. N., Wood C. M. Physiological interactions of silver and humic substances in *Daphnia magna*: effects on reproduction and silver accumulation following an acute silver challenge // *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, Volume 139, Issue 4, December 2004, P. 273-280, DOI 10.1016/j.cca.2004.12.005
148. Guan R., Wang W-X. Dietary assimilation and elimination of Cd, Se, and Zn by *Daphnia magna* at different metal concentrations. // *Environmental Toxicology and Chemistry*, Volume 23, Issue 11, 2004, — P. 2689–2698, DOI 10.1897/03-503
149. Heijerick, D. G., de Schamphelaere, K. A. C., Janssen, C. R. Predicting acute zinc toxicity for *Daphnia magna* as a function of key water chemistry characteristics: Development and validation of a biotic ligand model. // *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 2002, — P. 1309–1315, DOI 10.1002/etc.5620210628
150. Heijerick, D.G., De Schamphelaere, K.A.C., Janssen, C.R. (2002). " Biotic ligand model development predicting Zn toxicity to the alga *Pseudokirchneriella subcapitata*: possibilities and limitations" // *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, Sep. 133, 2002, (1-2): — P. 207-18, DOI 10.1016/s1532-0456(02)00077-7.
151. Heijerick, D. G., Janssen, C. R., de Coen, W. M. The combined effects of hardness, pH, and dissolved organic carbon on the chronic toxicity of Zn to *D. magna*: Development of a surface response model. // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44, 2003, — P. 210–217, DOI 10.1007/s00244-002-2010-9
152. Heijerick, D. G., de Schamphelaere, K. A. C., van Sprang, P. A., & Janssen, C. R. Development of a chronic zinc biotic ligand model for *Daphnia magna*. // *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62, 2005, — P. 1–10, DOI 10.1016/j.ecoenv.2005.03.020

153. IBM. [Электронный ресурс] — URL: <https://www.ibm.com> – (дата обращения 13.11.2024).
154. ISO 19204:2017 «Soil quality — Guidance on the determination of ecological risk», 2017 [Электронный ресурс].
155. ISO 11348-3:2007 «Water quality — Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) — Part 3: Method using freeze-dried bacteria» Amd 1:2018 [Электронный ресурс].
156. ISO 8692:2012 — Water quality — Freshwater algal growth inhibition test (ISO, 2012) [Электронный ресурс].
157. ImageJ. [Электронный ресурс] — URL: <https://imagej.net> – (дата обращения 13.11.2024).
158. LAB Instruments. [Электронный ресурс] — URL: <https://labinstruments.ru> – (дата обращения 13.11.2024).
159. Lam I.K.S., Wang W-X. Accumulation and elimination of aqueous and dietary silver in *Daphnia magna*. // Chemosphere, Volume 64, Issue 1, Jun, 2006, 64: — P. 26–35, DOI 10.1016/j.chemosphere.2005.12.023
160. Larkum, A. W. D., Grossman, A. R., & Raven, J. A. (Eds.). Photosynthesis in Algae: Biochemical and Physiological Mechanisms. // Advances in Photosynthesis and Respiration. 2020, — P. 532, DOI 10.1007/978-3-030-33397-3
161. MathWorks. [Электронный ресурс] — URL: <https://www.mathworks.com> – (дата обращения – 13.11.2024).
162. Messiha, N. K., El-Dabaa M. A. T., El-Masry R. R., Ahmed S. A. A. The allelopathic influence of *Sinapis alba* seed powder (white mustard) on the growth and yield of *Vicia faba* (faba bean) infected with *Orobanche crenata* (broomrape) // Middle East Journal of Applied Sciences. Volume 08. Issue 02. April-June,2018, — P. 418-425.
163. Muyssen B.T.A., de Schamphelaere, K. A. C., Janssen, C. R. Mechanisms of chronic waterborne Zn toxicity in *Daphnia magna* // Aquatic Toxicology, May, 2006, 25;77(4): — P. 393-401, DOI 10.1016/j.aquatox.2006.01.006.
164. MicroBioTests, [Электронный ресурс] — URL: <http://www.microbiotests.be> – (дата обращения 22.01.2023).
165. Nord Universitet. [Электронный ресурс] — URL: <https://site.nord.no> – (дата обращения – 12.12.2024).
166. OECD guidelines for the testing of chemicals «Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test» №208, 2006 [Электронный ресурс].
167. Paulauskis, J. D., & Winner, R. W. Effects of water hardness and humic acid on zinc toxicity to *Daphnia magna* Straus. // Aquatic Toxicology, 12, 1988, — P. 273–290, DOI 10.1016/0166-445X(88)90027-6

168. Persoone G. Recent new microbiotests for cost-effective toxicity monitoring: the Rapidtoxkit and the Phytotoxkit // 12th International Symposium on Toxicity Assessment - Book of Abstracts, 2005, — P. 112.
169. Protist Information Server. [Электронный ресурс] — URL: <http://protist.i.hosei.ac.jp> – (дата обращения – 17.12.2024).
170. ResearchGate. [Электронный ресурс] — URL: <https://www.researchgate.net> – (дата обращения – 17.12.2024).
171. Ruck J. G., Martin M. and Mabon M. Evaluation of Toxkits as Methods for Monitoring Water Quality // New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biomonitoring (G. Persoone, C. Janssen and W. De Coen, eds. - Kluwer Academic / Plenum Publishers) 2000, chapter 9 — P.103-119.
172. Satu. [Электронный ресурс] — URL: <https://satu.kz/astana/brands/Lyumeks> – (дата обращения – 11.09.2024).
173. Science Source. [Электронный ресурс] — URL: <https://www.sciencesource.com> – (дата обращения – 18.09.2024).
174. Sumorok B., Drobniwska A., Nalecz-Jawecki G., Sawicki J. and Zawadzka A. The Toxicity of River Sediments and Soil from Floodplains of four Rivers in Central Poland - a Case Study//Abstract - Second National Conference on Ecotoxicology - New Methods in Ecotoxicology - Warsaw, September 2005, — P. 123.
175. Sartorius. [Электронный ресурс] — URL: <https://www.sartorius.com> – (дата обращения – 13.11.2024).
176. Tan Q-G., Wang W.-X. Two-Compartment Toxicokinetic-Toxicodynamic Model to Predict Metal Toxicity in *Daphnia magna* // Environmental Science and Technology, Aug 8, 2012, 46(17):9709-15, DOI 10.1021/es301987u.
177. Ullah Z., Rashid A., Ghani J., Nawab J., Zeng X-C., Shah M., Alrefaei A.F., Kamel M., Aleya L., Abdel-Daim M.M., Iqbal J. Groundwater contamination through potentially harmful metals and its implications in groundwater management. // Frontiers in Environmental Science. Section Toxicology, Pollution and the Environment. 2022, — P.13, DOI 10.3389/fenvs.2022.1021596
178. United States Environmental Protection Agency. [Электронный ресурс] — URL: <https://www.epa.gov> – (дата обращения – 16.02.2024).
179. Vaal M.A. and Folkerts A.J. Suitability of Microscale Ecotoxicity Tests for Environmental Monitoring//New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biomonitoring (G. Persoone, C. Janssen and W. De Coen, eds. - Kluwer Academic / Plenum Publishers) 2000, chapter 28 - P. 253-260.
180. VanHall. [Электронный ресурс] — URL: <https://van-hall.ru> – (дата обращения – 02.02.2025).

181. Wolska L., Kuczyńska A., Kursa-Mikołajczak M. Namieśnik and J. Ecotoxicity of Waste Material from a Metallurgical Industry in Poland// Second National Conference on Ecotoxicology - New Methods in Ecotoxicology - Warsaw, September 2005, — P. 12-29.
182. Wang, Y., Shi, J., Wang, H. et al. The influence of soil heavy metals pollution on soil microbial biomass, enzyme activity, and community composition near a copper smelter // Environmental Earth Sciences. — 2007. — Vol. 67, Issue 1, — P. 75-81, DOI 10.1016/j.ecoenv.2006.03.007
183. Yu R.Q., Wang W-X. Trace metal assimilation and release budget in *Daphnia magna*. // Limnology and Oceanography, Marth, 2002, 47: — P. 495–504, DOI 10.4319/lo.2002.47.2.0495
184. Yu R.Q., Wang W-X. Kinetic uptake of bioavailable cadmium, selenium, and zinc by *Daphnia magna*. // Environmental Toxicology and Chemistry, Volume 21, Issue 11, 2002, — P. 2348–2355, DOI 10.1002/etc.5620211113.

Приложение 1

Показатели состава и свойств грунтов, используемых для приготовления контрольных образцов

Место отбора	Индекс	Глубина отбора, м	Минеральный состав, содержание, %				Гранулометрический состав (%), размер фракции, мм					Наименование грунта по ГОСТ 25100
			Кварц	Полевые шпаты	Слюдистые минералы	Глинистые минералы	<0,1	0,25-0,1	0,5-0,25	1,0-0,5	2,0-1,0	
Территория Люберецкого горно-обогатительного комбината, г. Москва	mK_{1-2}	1,5 – 2,0	98,6	–	1,1	0,3	0	36	64	0	0	Песок средней крупности однородный
Карьер «Мураевня», Рязанская обл.	$afglQ_{II}$	7,0 – 7,5	96,1	2,4	1,0	0,5	2	1	43	54	0	Песок крупный однородный
Карьер «Гора Хрустальная», Свердловская обл.	J ₂₋₃	1,0 – 1,5	99,6	0,4	–	–	0	0	91	9	0	Песок средней крупности однородный

Приложение 2

Интенсивность флуоресценции хлорофилла *Scenedesmus quadricauda*

№ пробы	Время от начала биотестирования, сутки	Кратность разведения водных вытяжек, раз	№ повторностей	Показание прибора, у. е.	Ср. значение по 2 -м повторностям, у. е.	Фактическая повторяемость для 2-х повторностей, %	Значение погрешности измерений, у.е.	Процентное отклонение от контроля, %
Контроль	1	1	1	0,0161	0,0173	13,3	0,0035	—
			2	0,0184				
	4	1	1	0,1898	0,2000	10,2	0,0400	—
			2	0,2101				
Суглинок пылеватый легкий тугопластичный	1	1	1	0,0134	0,0144	13,2	0,0029	16,8
			2	0,0153				
		10	1	0,0138	0,0151	16,6	0,0030	12,8
			2	0,0163				
		100	1	0,0147	0,0157	12,7	0,0031	9,0
			2	0,0167				
		1000	1	0,0152	0,0166	16,9	0,0033	3,8
			2	0,0180				
	4	1	1	0,1548	0,1670	14,6	0,0334	16,5
			2	0,1792				
		10	1	0,1694	0,1790	10,7	0,0358	10,5
			2	0,1886				
		100	1	0,1746	0,1871	13,4	0,0374	6,4
			2	0,1996				
		1000	1	0,1827	0,1961	13,7	0,0392	1,9
			2	0,2095				

Приложение 2 (продолжение)

№ пробы	Время от начала биотестирования, сутки	Кратность разведения водных вытяжек, раз	№ повторностей	Показание прибора, у. е.	Ср. значение по 2-м повторностям, у. е.	Фактическая повторяемость для 2-х повторностей, %	Значение погрешности измерений, у.е.	Процентное отклонение от контроля, %
Супесь пылеватая пластичная	1	1	1	0,0140	0,0153	16,4	0,0031	11,6
			2	0,0165				
		10	1	0,0152	0,0164	14,1	0,0033	5,2
			2	0,0175				
		100	1	0,0157	0,0168	13,1	0,0034	2,6
			2	0,0179				
		1000	1	0,0158	0,0172	15,7	0,0034	0,6
			2	0,0185				
	4	1	1	0,1663	0,1799	15,1	0,0360	10,1
			2	0,1934				
		10	1	0,1711	0,1842	14,2	0,0368	7,9
			2	0,1972				
		100	1	0,1783	0,1921	14,4	0,0384	3,9
			2	0,2059				
		1000	1	0,1856	0,1955	10,1	0,0391	2,2
			2	0,2054				
Песок средний неоднородный	1	1	1	0,0143	0,0154	13,7	0,0031	11,0
			2	0,0164				
		10	1	0,0146	0,0160	16,9	0,0032	7,5
			2	0,0173				
		100	1	0,0154	0,0168	16,1	0,0034	2,9
			2	0,0181				
		1000	1	0,0165	0,0171	7,0	0,0034	0,9
			2	0,0177				

Приложение 2 (продолжение)

№ пробы	Время от начала биотестирования, сутки	Кратность разведения водных вытяжек, раз	№ повторностей	Показание прибора, у. е.	Ср. значение по 2-м повторностям, у. е.	Фактическая повторяемость для 2-х повторностей, %	Значение погрешности измерений, у.е.	Процентное отклонение от контроля, %
Песок средний неоднородный	4	1	1	0,1652	0,1785	14,9	0,0357	10,7
			2	0,1918				
		10	1	0,1775	0,1856	8,7	0,0371	7,2
			2	0,1937				
		100	1	0,1891	0,1951	6,2	0,0390	2,4
			2	0,2011				
	1000	1	1	0,1934	0,1995	6,1	0,0399	0,2
			2	0,2056				
Песок мелкий неоднородный	1	1	1	0,0131	0,0140	12,2	0,0028	19,1
			2	0,0148				
		10	1	0,0144	0,0151	9,3	0,0030	12,5
			2	0,0158				
		100	1	0,0151	0,0161	11,8	0,0032	7,0
			2	0,0170				
	4	1000	1	0,0153	0,0167	16,2	0,0033	3,5
			2	0,0180				
		1	1	0,1514	0,1605	11,3	0,0321	19,7
			2	0,1696				
		10	1	0,1567	0,1693	14,8	0,0339	15,4
			2	0,1818				
		100	1	0,1652	0,1784	14,7	0,0357	10,8
			2	0,1915				
		1000	1	0,1749	0,1864	12,3	0,0373	6,8
			2	0,1978				

Приложение 2 (продолжение)

№ пробы	Время от начала биотестирования, сутки	Кратность разведения водных вытяжек, раз	№ повторностей	Показание прибора, у. е.	Ср. значение по 2 -м повторностям, у. е.	Фактическая повторяемость для 2-х повторностей, %	Значение погрешности измерений, у.е.	Процентное отклонение от контроля, %
«Люберецкий»	1	1	1	0,0154	0,0164	11,6	0,0033	5,2
			2	0,0173				
		10	1	0,0156	0,0168	13,7	0,0034	2,9
			2	0,0179				
		100	1	0,0162	0,0171	10,5	0,0034	0,9
			2	0,0180				
		1000	1	0,0166	0,0172	7,0	0,0034	0,3
			2	0,0178				
	4	1	1	0,1793	0,1868	8,0	0,0374	6,6
			2	0,1942				
		10	1	0,1854	0,1929	7,7	0,0386	3,6
			2	0,2003				
		100	1	0,1894	0,1973	8,0	0,0395	1,4
			2	0,2051				
		1000	1	0,1934	0,1986	5,2	0,0397	0,7
			2	0,2038				
«Рязанский»	1	1	1	0,0149	0,0162	15,5	0,0032	6,4
			2	0,0174				
		10	1	0,0153	0,0165	14,5	0,0033	4,3
			2	0,0177				
		100	1	0,0159	0,0169	11,3	0,0034	2,3
			2	0,0178				
		1000	1	0,0165	0,0173	8,7	0,0035	0,0
			2	0,0180				

Приложение 2 (продолжение)

№ пробы	Время от начала биотестирования, сутки	Кратность разведения водных вытяжек, раз	№ повторностей	Показание прибора, у. е.	Ср. значение по 2 -м повторностям, у. е.	Фактическая повторяемость для 2-х повторностей, %	Значение погрешности измерений, у.е.	Процентное отклонение от контроля, %
«Рязанский»	4	1	1	0,1761	0,1879	12,5	0,0376	6,1
			2	0,1996				
		10	1	0,1822	0,1903	8,5	0,0381	4,8
			2	0,1984				
		100	1	0,1822	0,1945	12,6	0,0389	2,7
			2	0,2068				
	1000	1	1	0,1884	0,1994	11,0	0,0399	0,3
			2	0,2103				
«Свердловский»	1	1	1	0,0155	0,0167	13,8	0,0033	3,5
			2	0,0178				
		10	1	0,0157	0,0167	12,0	0,0033	3,2
			2	0,0177				
		100	1	0,0161	0,0168	7,8	0,0034	2,9
			2	0,0174				
	4	1000	1	0,0166	0,0171	5,3	0,0034	1,2
			2	0,0175				
		1	1	0,1811	0,1897	9,1	0,0379	5,1
			2	0,1983				
		10	1	0,1888	0,1934	4,7	0,0387	3,3
			2	0,1979				
		100	1	0,1925	0,1970	4,5	0,0394	1,5
			2	0,2014				
		1000	1	0,1953	0,1998	4,5	0,0400	0,1
			2	0,2042				

Приложение 3

Расчет стоимости оценки класса опасности грунтов (в ценах II квартала 2025 года)

Сметный расчет составлен по следующим документам:					Сборник 3.3 «Инженерно-экологические изыскания. МРР-3.3.02-23»; Приказ комитета г. Москвы по ценовой политике в строительстве и государственной экспертизе проектов № МКЭ-ОД/25-35 от 27.03.2025 г.					
Объем работ заявлен на основании следующих документов:					СП 502.1325800.2021; СП 47.13330.2016; СП 11-102-97; СанПиН 2.1.3684-21; СанПиН 1.2.3685-21; МУ 2.6.1.2398-08; Приказ Минприроды России N 536;					
№ п/п	Наименование работ и затрат	Кат. сложности	Единица измерения	Кол-во (физ. объем)	Обоснование стоимости (расценки и коэффициентов)	Расценка	Расчёт стоимости/коэф-ты к расценке			Стоймость, руб.
							K1	K2	K3	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Раздел 1. ПОЛЕВЫЕ РАБОТЫ										
1	Отбор объединенных проб из скважин (1 проба из 5 точечных) методом по диагонали для анализа на загрязненность по химическим показателям.	-	1 проба	1	MPP-3.3.02-23 (MPP-3.3-22), п. 4.2, табл.4.1, п.п. 4, прим.1 к табл. 4.1	69,48	5	0,9	-	312,66
2	Расходы на полевые работы для расчета дополнительных коэффициентов	-	-	-	MPP-3.3.02-23, раздел 2	-	Сумма (п.0 - п.1) - п.0			312,66
3	Расходы на полевые работы с учетом корректирующих коэффициентов, предусмотренных разделом 2 сборника МРР-3.3.02-23	-	-	-	MPP-3.3.02-23, п.2.3, табл. 2.1, примечания к табл. 2.1	-	п.2 + п.2 + п.2			359,56
4	Расходы по внутреннему транспорту. Расстояние от базы изыскательской организации до участка изысканий, км: до 5	-	-	-	MPP-3.3.02-23, п.2.4, табл. 2.2, п.п.1	8,75%	п.3 x расценку			31,46

Приложение 3 (продолжение)

№ п/п	Наименование работ и затрат	Кат. сложности	Единица измерения	Кол-во (физ. объём)	Обоснование стоимости (расценки и коэффициентов)	Расценка	Расчёт стоимости/коэф-ты к расценке			Стоимость , руб.
							K1	K2	K3	
5	Расходы на полевые работы с учетом расходов по внутреннему транспорту	-	-	-	MPP-3.3.02-23, п.2.4, табл. 2.2, п.п.1	-	п.3 + п.4			391,02
6	Расходы по организации и ликвидации работ	-	-	-	MPP-3.3.02-23, п.2.5, табл. 2.3, п.п. 1	15,0 0%	п.5 x расценку x K1			58,65
7	Расходы на полевые работы, без выплаты полевого довольствия	-	-	-	MPP-3.3.02-23, раздел 2, п. 2.3 - 2.6	-	(п.5 + п.6)			449,67
8	ИТОГО по разделу 1. Полевые работы						(п.7 + п.0)			449,67
Раздел 2. ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ										
9	Пробоподготовка грунтов (монолитов) скважин для выполнения физико-химических исследований солей тяжелых металлов	-	1 образец (монолит)	1	MPP-3.3.02-23, п.5.7, табл. 5.1, п.п. 85	619, 56	-	-	-	619,56
10	Определение солей тяжелых металлов (4 тяжелых металлов) методом атомной абсорбции в пробах (монолитах) из скважин, без пробоподготовки	-	1 металл	4	MPP-3.3.02-23, п.5.7, табл. 5.1, п.п. 57	92,4 0	-	-	-	369,60
11	Определение солей тяжелых металлов (мышьяк, кадмий) с использованием электротермического атомизатора в пробах (монолитах) из скважин, без пробоподготовки	-	1 металл	2	MPP-3.3.02-23, п.5.7, табл. 5.1, п.п. 58	233, 37	-	-	-	466,74

Приложение 3 (продолжение)

№ п/п	Наименование работ и затрат	Кат. сложности	Единица измерения	Кол-во (физ. объём)	Обоснование стоимости (расценки и коэффициентов)	Расценка	Расчёт стоимости/коэф-ты к расценке			Стоимо-сть, руб.
							K1	K2	K3	
12	Определение солей тяжелых металлов (ртуть) с использованием ртутно-гидридной приставкой в пробах (монолитах) из скважин, без пробоподготовки	-	1 металл	1	MPP-3.3.02-23, п.5.7, табл. 5.1, п.п. 59	272,46	-	-	-	272,46
13	Приготовление солевой вытяжки (для определения pH) для химических исследований проб (монолитов) из скважин	-	1 образец (проба)	1	MPP-3.3.02-23, п.5.7, табл. 5.1, п.п. 84	100,69	-	-	-	100,69
14	Определение водородного показателя pH солевой вытяжки электриметрическим методом в грунтах из скважин	-	1 образец (проба)	1	MPP-3.3.02-23, п.5.7, табл. 5.1, п.п. 14	23,69	-	-	-	23,69
15	Определение нефтяных углеводородов хроматографическим методом в пробах (монолитах) из скважин	-	1 образец (проба)	1	MPP-3.3.02-23, п.5.7, табл. 5.1, п.п. 63	233,37	-	-	-	233,37
16	Определение полициклических ароматических углеводородов хроматографическим методом в пробах (монолитах) из скважин	-	1 образец (проба)	1	MPP-3.3.02-23, п.5.7, табл. 5.1, п.п. 66	1134,87	-	-	-	1134,87
17	Оценка токсичности почвы, грунтов, донных отложений (метод биотестирования)		1 исследование (проба) на дафниях	1	MPP-3.3.02-23, п.5.12, табл. 5.6, п.п. 1	1025,32	-	-	-	1025,32

Приложение 3 (продолжение)

№ п/п	Наименование работ и затрат	Кат. сложности	Единица измерения	Кол-во (физ. объём)	Обоснование стоимости (расценки и коэффициентов)	Расценка	Расчёт стоимости/коэф-ты к расценке			Стоимо-сть, руб.
							K1	K2	K3	
18	Оценка токсичности почвы, грунтов, донных отложений (метод биотестирования)		1 исследование (проба) на водорослях	1	MPP-3.3.02-23, п.5.12, табл. 5.6, п.п. 1	1025 ,32	-	-	-	1 025,32
19	ИТОГО по разделу 2. Лабораторные работы						Сумма (п.8 - п. 18)			5 271,62

Раздел 3. КАМЕРАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

20	Камеральная обработка химических и бактериологических анализов; микробиологических, паразитологических, токсиколого-гигиенических и агрехимических исследований; исследований на загрязненность почво-грунтов, воды, льда, снега и донных отложений при инженерно-экологических изысканиях	-	-	-	MPP-3.3.02-23, п. 6.2.1, табл. 6.2.1, п.п. 3	20,0 0%	(п.19 - п.16 - п.16 - п.16) х расценку		1 054,32
21	ИТОГО по стоимости камеральных работ для расчета стоимости составления отчета	-	-	-	MPP-3.3.02-23, п. 6.2	-	Сумма (п. 19 - п. 19) - п. 19 - п. 19 - п. 19 - п. 19		1 054,32
22	Составление отчета	II	1 отчет	1	MPP-3.3.02-23, п.6.3.4, табл. 6.3.1, п.п. 1	21,0 0%	п.21 x расценку		221,41
23	ИТОГО по разделу 3. Камеральные работы						Сумма (п.19 - п.19) + п.22		1 275,73
24	ИТОГО по всем разделам 1-3						п.8 + п.19 + п.23		6 997,02

Приложение 3 (продолжение)

№ п/п	Наименование работ и затрат	Кат. сложности	Единица измерения	Кол-во (физ. объём)	Обоснование стоимости (расценки и коэффициентов)	Расценка	Расчёт стоимости/коэф-ты к расценке			Стоимость, руб.
							K1	K2	K3	
25	ИТОГО по всем разделам 1-3 с учетом выдачи заказчику промежуточных материалов				MPP-3.3.02-23, раздел 2, п.2.6 (а)	-	расценку х (п.24- п.4 - п.6) + п.4 + п.6		6 997,02	
26	ИТОГО по всем разделам 1-3 с учетом срочности выполнения работ					-	п.25 x расценку		6 997,02	.
27	ИТОГО по всем разделам 1-3 с учетом инфляционного коэффициента				Приказ комитета г. Москвы по ценовой политике в строительстве и государственной экспертизе проектов № МКЭ-ОД/25-35 от 27.03.2025 г.	7,555	-	п.26 x расценку х K1		52 862,49
Раздел 4. РАСХОДЫ ПО ФАКТИЧЕСКИМ ЗАТРАТАМ										
28	ИТОГО по смете без НДС						п.27 + п.27		52 862,49	