**Дипломный проект**

**Тема: «Разработка методики мониторинга**

**эколого-функционального состояния почвогрунтов.**

**Аннотация**

В данном дипломном проекте разработана методика мониторинга эколого-функционального состояния почвогрунтов полосы отвода по показателям ферментативной активности, позволяющая сократить время и трудозатраты при исследовании состояния почвы на больших территориях. Данная методика также является экономически выгодной за счет применения малого числа реактивов и исследования небольшого участка больших территорий. Разработанная методика рекомендована для контроля состояния почв.

Дипломный проект включает 105стр., 9табл., 12 рис., 41библ.

**Содержание**

Введение………………………………………………………………………...........5

Глава 1. Полоса отвода и ее загрязнение…………………………...........................6

1.1 Общие сведения о полосе отвода………………………………………...6

1.2 Загрязнение почв полосы отвода предприятиями железнодорожного транспорта……………………………………………………………………………8

1.3 Влияние загрязнения на экологические функции почв……………….10

1.3.1 Экосистемные (биогеоценотнческие) функции почвы.…………11

1.3.2 Глобальные (биосферные) функции почвенного покрова……....15

Глава 2. Ферментативная активность как показатель эколого-функционального состояния почвы……………………………………………………………………18

2.1 Показатели эколого-функционального состояния почвы и выбор наиболее информативных показателей…………………………………………..18

2.2 Ферментативная активность и ее значимость для оценки эколого-функционального состояния почвы……………………………………………….20

2.3 Изменение ферментативной активности почвы в зависимости от загрязнения…………………………………………………………………………25

2.4 Наиболее значимые ферментативные показатели…………………….23

Глава 3. Комплексное обследование ферментативной активности почвы как инструмент мониторинга эколого-функционального состояния почвы………..34

3.1 Общие представления о мониторинге окружающей среды…………..34

3.2 Принципы почвенно-экологического мониторинга…………………...34

3.3 Исследование ферментативной активности почвы…………………....35

Глава 4. Материалы и методы……………………………………………………..38

4.1 Основные требования, предъявляемые к методам определения активности ферментов в почве…………………………………………………….38

4.2 Методы определения активности ферментов различных классов…...48

4.2.1 Каталаза……………………………………………………………..49

4.2.2 Дегидрогеназа………………………………………………………52

4.2.3 Инвертаза…………………………………………………………...53

4.2.4 Протеазы……………………………………………………………56

4.2.5 Уреаза……………………………………………………………….57

4.2.6 Фосфатаза…………………………………………………………...59

4.3 Методика мониторинга эколого-функционального состояния почвогрунтов полосы отвода по показателям ферментативной активности…...61

4.3.1 Геолого-географическая характеристика района отбора проб….61

4.3.2 Методика отбора проб и подготовка их к анализу………………61

4.3.3 Приготовление посуды и реактивов………………………………64

4.3.4 Методика отбора проб, учитывающая вариабельность свойств почв в пространстве………………………………………………………………..64

4.3.5 Результаты исследования проб……………………………………67

4.3.6 Оценка состояния почвогрунтов полосы отвода………………...68

Глава 5. Эколого-экономическая оценка природоохранных мероприятий…….70

5.1 Общие сведения………………………………………………………….70

5.2 Определение величины предотвращенного экологического ущерба……………………………………………………………………………….73

5.3 Расчет величины предотвращенного в результате природоохранной деятельности экологического ущерба от ухудшения и разрушения почв и земель………………………………………………………………………………..73

Глава 6. Охрана труда……………………………………………………………...77

6.1 Рабочее освещение производственных объектов……………………...77

6.2 Расчет искусственного освещения рабочего места……………………82

Глава 7. Безопасность жизнедеятельности в чрезвычайных ситуациях………..87

7.1 Обеспечение безопасности железнодорожных путей и ликвидация аварийных ситуаций при перевозке опасных грузов…………………………….87

7.2 Характеристика транспортной опасности при перевозке груза……...87

7.3 Требования безопасности при транспортировке хлора железнодорожным транспортом…………………………………………………..95

7.4 Порядок необходимых действий по ликвидации аварийной ситуации с опасным грузом – хлором………………………………………………………….98

Общие выводы…………………………………………………………………….102

Список литературы и источников……………………………………….……….103

**Введение**

Почвы занимают важнейшее место в структурно-функциональной организации биогеоценозов и представляют собой одну из самых сложных среди всех известных больших систем. Нелинейная и чрезвычайно вариабельная почвенная система включает бесконечное множество разнообразных химических и биологических составляющих, которые необходимо изучать на разных иерархических уровнях - от атомарного до глобального, используя принципы и методы из смежных дисциплин, таких как биохимия, микробиология, физиология растений, динамика жидкостей, химия поверхностных процессов и др. Стимулом для изучения всех составляющих почвы является не только установление зависимостей между свойствами почв, но и разработка долговременных и эффективных приемов контроля за качеством окружающей среды во всех аспектах, касающихся почвенных ресурсов.

Для контроля качества почвенных ресурсов необходима организованная сеть наблюдений и сбор данных о состоянии почвы, т.е. почвенный мониторинг. Одним из методов почвенного мониторинга является определение ферментативной активности почвы. Многими исследователями доказано, что ферментативная активность почвы лучше всех остальных биологических показателей коррелирует с содержанием загрязнений в почве, т.е. является лучшим индикатором ее состояния. Именно поэтому необходима разработка методики мониторинга состояния почвы по показателям ферментативной активности.

Также меня заинтересовала данная тема, потому что полосы отвода под объекты железнодорожного транспорта и саму железную дорогу занимают огромные территории и исследование этих территорий является сложной задачей из-за больших трудозатрат, затрат времени и денежных средств. Разрабатываемая в данном дипломном проекте методика мониторинга позволяет все эти затраты сократить.

**Глава 1. Полоса отвода и ее загрязнение**

**1.1 Общие сведения о полосе отвода**

При строительстве и реконструкции объектов железнодорожного транспорта осуществляется отвод земельных угодий, как в постоянное, так и во временное пользование.

Размещение земляного полотна, искусственных сооружений, производственных и жилищно-бытовых зданий и других сооружений обусловливает необходимость отвода земли в постоянное пользование. Закладка карьеров, строительство временных подъездных дорог, поселков строителей требуют временного отвода земельных угодий.

При строительстве железных дорог наблюдается тенденция роста площадей, отводимых во временное пользование, при незначительном уменьшении площадей земель, отчуждаемых в постоянное пользование. За последние годы рост отвода земель во временное пользование составил при сооружении новых железных дорог 300%, а отвод земель в постоянное пользование сократился на 8%.

К основным мероприятиям, позволяющим сократить отвод земель в железнодорожном строительстве, следует отнести снижение объемов земляных работ при разработке карьеров за счет улучшения распределения земляных масс, максимального приближения притрассовых автомобильных дорог к оси железной дороги, повышения этажности и степени использования площадей под здания и другие сооружения.

Отвод земель объектам железнодорожного транспорта во временное пользование распределяется следующим образом, (%): карьеры и резервы - 62; временные автодороги - 27; временные поселки строителей - около 5; другие объекты - 6.

Средняя площадь отводимых земель в расчете на 1 км строительной длины линии составляет 9,25 га, в том числе площадь постоянного отвода - 7,24 га (78 %), площадь временного отвода -2,01 га (22 %).

Земля, отводимая под постоянные сооружения, изымается навечно, что приводит к выбытию ее из сельскохозяйственного оборота, нарушению внутрихозяйственного землеустройства, изменению порядка севооборота, созданию помех в применении мелиорации и современной агротехники.

Ширину полосы земель, отводимых для железных дорог, на перегонах (при отсутствии боковых резервов, кавальеров, укрепительных сооружений, снегозадерживающих лесонасаждений и устройств) определяют в соответствии с данными табл. 1.

Таблица 1

**Нормы отвода земель под строительство железных дорог**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Высота насыпи, м | Ширина полос отвода земель, м | | | | | | | | | | | | |
| Для железных дорог колеи 1520м | | | | | | | Для железных дорог колеи 750м | | | | | |
| I и II категорий | | | III и IV категорий | | | | I категории | | | II и III категории | | |
| при поперечном уклоне местности | | | | | | | | | | | | |
| До  1:25 | до  1:10 | до  1:5 | до  1:25 | до  1:10 | до  1:5 | до  1:25 | | до  1:10 | до  1:5 | до  1:25 | до  1:10 | до  1:5 |
| 1  2  3  4  5  6  7  8  9  10  11  12 | 23  26  20  23  26  29  33  37  40  44  47  51 | 20  23  26  29  32  36  39  43  47  51  -  - | 22  25  28  32  36  40  44  48  -  -  -  - | 22  25  19  22  25  28  32  36  39  43  46  50 | 19  22  25  28  31  35  38  42  40  50  -  - | 21  24  27  31  35  39  43  47  -  -  -  - | 20  23  17  20  23  26  30  34  37  41  44  48 | | 17  20  23  26  29  33  36  40  44  48  -  - | 18  22  25  29  33  37  41  45  -  -  -  - | 19  22  16  29  22  25  29  33  36  40  43  47 | 16  29  22  25  28  32  35  39  43  37  -  - | 18  21  24  28  32  36  40  44  -  -  -  - |

При размещении железных дорог на орошаемых или осушенных землях, пашне, земельных участках, занятых многолетними плодовыми насаждениями и виноградниками, земляное полотно следует устраивать без боковых резервов и кавальеров.

При размещении железных дорог на указанных землях должны быть разработаны варианты проектных решений, обеспечивающие уменьшение изъятия земель.[1]

**1.2 Загрязнение почв полосы отвода предприятиями железнодорожного транспорта**

Предприятия железнодорожного транспорта занимают территории в среднем от 2 до 50 га, отличающиеся не только размерами, но и степенью загрязненности. Характер технологических процессов, осуществляемых предприятием, определяет вид и площадь загрязнения. Наиболее распространенными загрязнителями территорий предприятий железнодорожной отрасли являются нефть и нефтепродукты, мазут, дизельное топливо, масла и смазочные материалы, антисептики, фенолы, а также остатки перевозимых грузов и отходы производства. Площадь загрязненных участков колеблется от 5 до 25% общей территории предприятия. Соотношение между занимаемой и загрязненной территориями основных видов железнодорожных предприятий приведено в табл. 2.

Таблица 2

**Площади загрязненных территорий железнодорожных предприятий**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Наименование предприятия | Средняя площадь предприятия, га | | Площадь загрязненной территории, % |
| общая | загрязненная |
| Депо:  локомотивные  вагонные  рефрижераторные | 5  4,5  3 | 1  0,9  0,3 | 20  20  10 |
| Промывочно-пропарочные станции | 12 | 3 | 25 |
| Шпалопропиточные заводы | 10 | 2,4 | 24 |
| Станции и пункты обслуживания вагонов | 50 | 5 | 10 |
| Пункты подготовки вагонов:  пассажирских  грузовых | 2  2 | 0,06  0,15 | 3  5 |

Причиной загрязнения железнодорожных путей нефтепродуктами является утечка их на пути и межпутье из цистерн, неисправных котлов и сливных приборов во время перевозки. Смазочные масла попадают на пути во время сезонных и эпизодических заправок букс, с колесных пар, а также непосредственно из неплотно закрытых букс при движении состава.

Локомотивные и вагонные депо занимают территории, площадь которых колеблется в среднем в пределах 4-5 га. Около 20% из нее загрязняется нефтепродуктами в процессе осуществления производственной деятельности: дизельным топливом и дизельными маслами, проливающимися во время заправок локомотивов, смазками - при заправке букс, мазутом - при использовании его в котельных депо. Количество загрязнений колеблется от 5 до 20 г на килограмм грунта.

Территории промывочно-пропарочных станций занимают в среднем до 12 га, из которых примерно четвертая часть довольно сильно загрязнена остатками перевозимых нефтяных грузов.

Загрязненные производственные площади шпалопропиточных заводов (ШПЗ) составляют 20-25% всей территории и образуются вокруг пропиточных цилиндров и на складе готовой продукции, поскольку по существующей технологии процесса пропитки тележки со шпалами выкатываются из пропиточных цилиндров, отстаиваются для стекания избытка пропиточного масла и разгружаются на склад готовой продукции. Основными загрязнителями территорий ШПЗ являются сланцевые и каменноугольные масла, содержащие фенолы. Концентрации загрязнений в среднем составляют 50-100 г/кг грунта.

Железнодорожные станции, пункты технического обслуживания вагонов занимают площади от нескольких до сотен гектаров. Из них 10% составляют загрязненные территории. При маневрах подвижного состава и движении грузовых поездов пути станций загрязняются различными сыпучими грузами, разлитыми нефтепродуктами.

Пункты подготовки пассажирских вагонов, где осуществляется наружная обмывка вагонов, и пункты подготовки грузовых вагонов, где вагоны промываются внутри, занимают небольшие территории, в среднем 2-3 га. Технологические процессы этих предприятий не способствуют образованию больших загрязненных площадей: в среднем они составляют 3-5% занимаемой территории.

Загрязнение территории отрицательно сказывается на состоянии окружающей природной среды. На некоторых предприятиях и железнодорожных путях грунты пропитаны нефтепродуктами на значительную глубину, что создает угрозу, как поверхностным водоемам, так и подземным водам.[2]

**1.3 Влияние загрязнения на экологические функции почв**

Почва, является неотъемлемой частью любого биогеоценоза и биосферы в целом. При этом, она выполняет ряд экологических функций, в т.ч. глобальных биосферных, обеспечивающих стабильность биосферы и саму возможность существования жизни на Земле [3].

В настоящее время принято деление экологических функций почвы на две большие группы: экосистемные (биогеоценотические) функции почвы и глобальные (биосферные) функции почвенного покрова [4].

**1.3.1 Экосистемные (биогеоценотнческие) функции почвы**

Являясь частью любого наземного биогеоценоза, почва выполняет ряд экосистемных (биогеоценотических) функций (рис. 1). Загрязнение почвы приводит к их нарушению.

1. Функции почвы, обусловленные физическими свойствами: жизненное пространство, жилище и убежище, механическая опора, депо семян и других зачатков.

В рассматриваемом аспекте наиболее важными являются такие физические свойства почвы как структура, плотность, влагоемкость, водопроницаемость, темпeрaтyрa, теплопроводность и др.

Многочисленные данные свидетельствуют, что при загрязнении почвы предприятиями железнодорожного транспорта ухудшается структура почвы, увеличивается плотность, уменьшается общая порозность, снижается водопроницаемость, ухудшается водно-воздушный режим почв [5].

В результате девегетации усиливаются процессы эрозии и дефляции почвы. В последнем случае наблюдается разрушение почвы, которое делает невозможным выполнение почвой не только этой группы функций, связанной с физическими свойствами, но и любых других ее функций.

При загрязнении физические свойства почв изменяются в последнюю очередь. Это происходит только при очень значительном накоплении загрязнений в почве - около 10 ПДК и более [6].

Жизненное пространство

Физические

Депо семян и других зачатков

Механическая опора

Жилище и убежище

Химические и физико-химические

Информационные

Целостные

Источник элементов питания

Аккумуляция и трансформа-ция вещества и энергии

Сигнал для ряда сезонных и других биологических процессов

Категории и типы биогеоценотических функций почвы

Санитарная функция

Регуляция численности, состава и структуры биоценозов

Стимулятор и ингибитор биохимических и других процессов

Буферный и защитный биогеоцено-тический экран

Пусковой механизм некоторых сукцессий

Депо влаги, элементов питания и энергии

Условие существо-вания и эволюции организмов

«Память» биогеоценоза

Сорбция веществ и микроорганиз-мов

Почвенное плодородие

**Рис.1. Экосистемные (биогеоценотические) функции почвы** [7]

2. Функции почвы, связанные преимущественно с ее химическими, физико-химическими и биохимическими свойствами: источник элементов питания; депо влаги, элементов питания и энергии; сорбция веществ, поступающих из атмосферы и с грунтовыми водами; сорбция микроорганизмов; стимулятор и ингибитор биохимических и других процессов.

Выполнение перечисленных функций зависит от таких свойств почвы как содержание и запасы гумуса и элементов минерального питания, влагоемкость, щелочно-кислотные и окислительно-восстановительные условия, активность ферментов и др.

Высокие дозы загрязнений вызывают алифатизацию гумуса , что ведет к увеличению содержания углеводов, гидролизуемости гумуса, степени окисляемости гумуса и соответственно значений крнцентрации гумуса[8].Загрязнение почв предприятиями железнодорожного транспорта влияет и на качественный состав гумуса, в основном снижается содержание гуминовых кислот и увеличивая содержания фульвокислот[6].

Как правило, загрязнения почвы ингибируют процессы азотфиксации, аммонификации, нитрификации и минерализации. Однако, в ряде случаев, при невысокой концентрации загрязнений или в богатых гумусом почвах, отмечается усиление интенсивности этих процессов, вследствие чего возрастает содержание в почве доступных растениям форм азота, а часто и фосфора, т.е. происходит улучшение питательного режима почвы [9].

Загрязнение почвы практически всегда ведет к снижению ферментативной активности почв, так как ингибирование ферментов является характерным свойством загрязнений железнодорожного транспорта.

Изменение вышеуказанных свойств происходит уже при менее значительном загрязнении почвы - около 1 ПДК и более.

3.Информационная группа биогеоценотических функций почвы: сигнал для ряда сезонных и других биологических процессов; регуляция численности, состава и структуры биоценозов; пусковой механизм некоторых сукцессий; «память» биогеоценоза. По сравнению с вещественной и энергетической сторонами природных процессов и явлений информационный аспект исследуется относительно недавно. Отчасти именно поэтому сведения о влиянии загрязнений на эту группу экологических функций почвы практически отсутствуют. Исключение составляет информация об изменении численности, состава и структуры биоценозов.

По имеющимся данным, загрязнение почв объектами железнодорожного транспорта оказывает значительное влияние на общую численность, видовой состав и активность почвенной микробиоты. При загрязнении почв железнодорожным транспортом численность почвенных микроорганизмов может снижаться, не изменяться, и даже увеличиваться. [6] Более однозначными являются изменения состава и структуры комплекса почвенных микроорганизмов, которые проявляются в снижении видового разнообразия [10].

4.Целостные биогеоценотические функции почвы: аккумуляция и трансформация веществ и энергии, находящихся в биогеоценозе или поступающих в него; санитарная функция; буферный и защитный биогеоценотический экран; условия существования и эволюции организмов.

Выполнение почвой этой группы функций зависит от всех ее свойств. На примере данной группы функций наиболее отчетливо прослеживаются обратные связи между загрязнением почвы железнодорожным транспортом и способностью почвы выполнять свои экологические функции. С одной стороны, именно указанные функции призваны предотвращать негативные последствия загрязнения почв железнодорожным транспортом, с другой стороны, когда свойства почвы, определяющие эти функции, не выдерживают антропогенного пресса, и происходит срыв в их работе, тогда и возникают нарушения в функционировании почвы и всей экосистемы. Именно под устойчивостью данных функций должна пониматься устойчивость почвы к загрязнению объектами железнодорожного транспорта.

О влиянии загрязнения объектами железнодорожного транспорта на группу целостных биогеоценотических свойств почвы можно судить по показателям фитотоксичности почвы. Загрязнения объектов железнодорожного транспорта приводят к увеличению фитотоксических свойств почвы [11].

Ухудшение целостных функций почвы происходит одновременно с ухудшением группы химических, физико-химических и биохимических функций почвы, т.е. при содержании загрязнений около 1 ПДК и более [6].

**1.3.2 Глобальные (биосферные) функции почвенного покрова**

Помимо охарактеризованных биогеоценотических функций почвы, почвенный покров, как компонент биосферы, выполняет ряд биосферных функций (табл. 3). Проанализируем влияние загрязнений железнодорожного транспорта на способность почвы выполнять основные биосферные функции.

1.Среда обитания, аккумулятор и источник вещества и энергии для организмов суши. Загрязненная железнодорожным транспортом почва является малопригодной или вовсе непригодной для обитания большинства живых организмов. Даже если почва не становится безжизненной, то формирующиеся на ней биоценозы отличаются малым объемом биомассы, низкой скоростью биологических процессов, узким видовым составом (биоразнообразием), слабой устойчивостью и т.д

Таблица 3

**Глобальные функции почв** [12]

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Сферы влияния | | | |
| Литосфера | Гидросфера | Атмосфера | Биосфера в целом |
| биохимическое преобразование верхних слоев литосферы | трансформация поверхностных вод в грунтовые | поглощение и отражение солнечной радиации | среда обитания, аккумулятор и источник вещества и энергии для организмов суши |
| источник вещества для образования минералов, пород, полезных ископаемых |  | регулирование влагооборота атмосферы | связующее звено биологического и геологического круговоротов |
| передача аккумулирован-ной солнечной энергии в глубокие части литосферы | участие в формировании речного стока | источник твердого вещества и микроорганизмов, поступающих в атмосферу |  |
|  | фактор биопродуктивности водоемов за счет приносимых почвенных соединений | поглощение и удержание некоторых газов от ухода в космическое пространство | защитный барьер и условие нормального функционирования биосферы |
| защита литосферы от чрезмерной эрозии и условие ее нормального развития | сорбционный защищающий от загрязнения барьер акваторий | регулирование газового режима атмосферы | фактор биологической эволюции |

2.Сопряжение большого геологического и малого биологического круговоротов веществ на земной поверхности. Следствием снижения интенсивности биологических процессов является ослабление биологического круговорота вещества и усиление геологического. Это выражается в развитии эрозии почв, усилении процессов денудации суши, приводит к удалению с поверхности суши биофильных элементов.

3.Регулирование химического состава атмосферы и гидросферы. В почве, загрязненной объектами железнодорожного транспорта, происходит изменение биогеохимических и геохимических процессов, что отражается на направленности трансформации и миграции веществ между почвой, атмосферой и гидросферой. Например, ослабление интенсивности почвенного «дыхания» снижает поглощение почвой кислорода и выделение в атмосферу углекислою газа.

4.Защитный барьер биосферы. Почва, в большей степени, чем другие компоненты биосферы, нейтрализует в себе значительную часть загрязняющих биосферу веществ, в частности загрязнений железнодорожного транспорта, тем самым, предотвращая их поступление в живое вещество. При загрязнении железнодорожным транспортом буферные (защитные) свойства почвы снижаются.

5.О6еспечение существования жизни на Земле. Венцом всех охарактеризованных экологических функций почвы выступает ее плодородие, обеспечивающее возможность существования жизни на континентах в современной форме, а также жизнь и хозяйственную деятельность человека. Загрязнение объектами железнодорожного транспорта снижает почвенное плодородие, продуктивность и устойчивость экосистем, ухудшает здоровье и качество жизни населения, сокращает продолжительность жизни.

Нарушение общебиосферных функций, выполняемых почвой, в результате целого комплекса причин, только одной из которых является загрязнение объектами железнодорожного транспорта, в настоящее время принимает планетарный характер. Этот процесс вносит свою отрицательную лепту в развитие глобального экологического кризиса и создает угрозу стабильного существования биосферы.[6]

**Глава 2. Ферментативная активность как показатель эколого-функционального состояния почвы**

**2.1 Показатели эколого-функционального состояния почвы и выбор наиболее информативных показателей**

Мониторинг и диагностика почв приобретают в настоящее время актуальное значение, как для проведения фундаментальных научных исследований, так и для выполнения практических производственных мероприятий [13].

Наиболее полным исследование состояния загрязненных объектами железнодорожного транспорта почв, будет в том случае, если будут определены следующие показатели:

- прямые показатели загрязнения почв: общее (валовое) содержание загрязнений, содержание подвижных (экстрагируемых) форм загрязнений, мощность загрязненного слоя и др.;

- показатели изменения свойств почв под действием загрязнителей: активность почвенных ферментов, скорость основных микробиологических процессов, численность почвенных микроорганизмов и структура микробоценоза, содержание подвижных соединений азота и фосфора, фитотоксичность и др.;

- показатели устойчивости почв к загрязнению: емкость почвенного поглощающего комплекса, содержание и запасы гумуса, щелочно-кислотные условия, окислительно-восстановительные условия и др. [14]

Выбор показателей для мониторинга эколого-функционального состояния почв, должен основываться на следующих критериях:

- информативность показателя (тесная корреляция между показателем и антропогенным фактором);

- высокая чувствительность показателя;

- хорошая воспроизводимость результатов;

- незначительное варьирование показателя;

- небольшая ошибка опыта;

- простота, малая трудоемкость и высокая скорость метода определения;

- широкая распространенность метода в стране и за рубежом, соответствие принятым стандартам.

С другой стороны, нет смысла определять необоснованно большое количество разнообразных показателей эколого-функционального состояния почвы. Практика показала, что для объективной достоверной оценки эколого-функционального состояния почвы достаточно определения набора наиболее информативных показателей.

Выбор показателей для мониторинга и диагностики эколого-функционального состояния почв должен проводиться в зависимости от целей и задач исследования, вида антропогенного воздействия на почву, имеющейся лабораторно-аналитической базы, подготовки персонала и других критериев.

Определение всего комплекса показателей загрязнения является очень трудоемким и дорогостоящим мероприятием и возможно только в очень редких случаях. Более целесообразным представляется определить узкий набор показателей, достаточно объективно отражающих последствия загрязнения. Очевидно, что это должны быть показатели изменения свойств почв под действием загрязнителей (показатели второй группы), поскольку степень их изменения уже зависит от параметров загрязнения (показатели первой группы) и от устойчивости почв к загрязнению (показатели третьей группы). Далее из показателей изменения свойств почв (вторая группа) следует отдать предпочтение биологическим показателям, так как они первыми реагируют на антропогенное воздействие. И, наконец, из большого количества биологических показателей следует выбрать наиболее чувствительные и наименее вариабельные.

Не все биологические показатели, используемые в настоящее время в научных исследованиях, одинаково хорошо подходят для мониторинга и диагностики состояния почв. Различные свойства почвы по-разному и в неодинаковой степени реагируют на внешнее воздействие, в частности, на загрязнение объектами железнодорожного транспорта [6].

**2.2 Ферментативная активность и ее значимость для оценки эколого-функционального состояния почвы**

Ферментативная активность почв[от лат. fermentum- закваска] -способность почвы проявлять каталитическое воздействие на процессы превращения экзогенных и собственных органических и минеральных соединений благодаря имеющимся в ней ферментам. Характеризуя ферментативную активность почв, имеют в виду суммарный показатель активности. Ферментативная активность различных почв неодинакова и связана с их генетическими особенностями и комплексом взаимодействующих экологических факторов. Уровень ферментативной активности почв определяется активностью различных ферментов (инвертазы, протеаз, уреазы, дегидрогеназ, каталазы, фосфатаз), выражаемой количеством разложенного субстрата за единицу времени на 1 г почвы [15].

Источниками почвенных ферментов служит все живое вещество почв: растения, микроорганизмы, животные, грибы, водоросли и т. д. Накапливаясь в почве, ферменты становятся неотъемлемым реактивным компонентом экосистемы. Почва является самой богатой системой по ферментному разнообразию и ферментативному пулу. Разнообразие и богатство ферментов в почве позволяет осуществляться последовательным биохимическим превращениям различных поступающих органических остатков. Ферментативная активность затрагивает наиболее важные повторяющиеся превращения в биохимических циклах углерода, азота, фосфора, серы и других соединений. Под действием ферментов органические вещества распадаются до различных промежуточных и конечных продуктов минерализации. При этом образуются доступные растениям и микроорганизмам питательные вещества. А также высвобождается энергия.

Экологическая значимость ферментативной активности определяется следующим:

- уникальное богатство почв ферментами;

- главнейшая экологическая функция ферментов - разрушение первичного органического вещества и синтез вторичного, обогащение почв биогенными элементами и гумусом;

- ферменты выполняют роль катализаторов энергетического и вещественного обмена в почве;

- ферменты почв являются регуляторами связей между компонентами географических экосистем;

- ферменты почв участвуют в превращениях минеральной массы почв, как главной составляющей ее вещественного состава;

- ферменты участвуют в формировании гумусного состояния почв как интегрального показателя плодородия земель.[16]

Какова же значимость ферментативной активности для оценки эколого-функционального состояния почвы? Был проведен сравнительный анализ разных методов оценки состояния почвы. В основу анализа положено сравнение вариабельности полученных данных и чувствительности методов к выявлению разных уровней загрязнения почвы. Зафиксирован следующий ряд биологических свойств почв по степени их устойчивости к загрязнению объектами железнодорожного транспорта: активность катализы > активность инвертазы > активность уреазы = активность фосфатазы > скорость разложения мочевины > целлюлозолитическая способность > интенсивность накопления свободных аминокислот > фитотоксичность > численность микроскопических грибов > численность актиномицетов > численность бактерий > численность спорообразующих бактерий.[6]

Д.Г. Звягинцевым с соавт [14] установлено, что данные, полученные биохимическими методами, имеют относительно низкие коэффициенты варьирования – в интервале 2-20%, в среднем 5-10%, в то время как данные, полученные микробиологическими методами (посев и определение биомассы), находятся в интервале 5-100%, в среднем 20-40%. Кроме того, биохимические показатели являются более чувствительными к возрастанию доз загрязнений. Об этом свидетельствуют коэффициенты корреляции между показателями и содержанием в почве.

Результаты проведенного исследования [6] полностью подтверждают выводы, полученные Д.Г. Звягинцевым с соавт. [14] для загрязненных дерново-подзолистых почв. Аналогичные закономерности зафиксированы для черноземов обыкновенных, загрязненных объектами железнодорожного транспорта.

Таким образом, несмотря на то, что микробиологические показатели первыми реагируют на загрязнение, их реакция хуже коррелирует (или вовсе не коррелирует) с содержанием в почве загрязнений от объектов железнодорожного транспорта, чем реакция биохимических показателей. Кроме того, микробиологические показатели отличаются намного более значительным варьированием, по сравнению с биохимическими показателями. И, наконец, микробиологические показатели являются существенно более трудоемкими и дорогостоящими в определении, а также требуют исполнения высококвалифицированным персоналом. Поэтому, при проведении мониторинга и диагностики состояния почв, в первую очередь, следует определять биохимические показатели как более чувствительные, менее варьирующие, менее трудоемкие и менее дорогостоящие по сравнению с микробиологическими показателями.

Из биохимических показателей, в первую очередь, рекомендуются показатели изменения ферментативной активности: каталазы, инвертазы, уреазы, фосфатазы и ряда других почвенных ферментов. Именно активность ферментов наилучшим образом коррелирует с содержанием в почве загрязнений, поскольку ингибирование каталитической активности ферментов является характерным свойством загрязнений от объектов железнодорожного транспорта, основным механизмом их токсического действия. Таким образом, изменение ферментативной активности является ведущим показателем влияния загрязнения объектов железнодорожного транспорта на свойства почвы. Показатели микробиологической активности, фитотоксичности почвы, состояния растений и почвообитающей фауны являются вторичными, опосредованными через ингибирование загрязнениями железнодорожного транспорта ферментов живых организмов.[17]

В пользу особого значения ферментативной активности как показателя происходящих в почве процессов также свидетельствует следующий факт. Ферментативный пул является результатом реализации реально функционирующей части генофонда данного микробного сообщества (и даже генофонда всей экосистемы).[18]

В том, что ферментативная активность лучше остальных показателей применима для диагностики состояния почв можно убедиться, обратившись к табл.4.

Таблица 4

**Оценка применимости биологических методов исследования почв для биодиагностики и биоиндикации [19]**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатель | Метод | Информативность | Чувствительность | Производительность анализа | Временные флуктуации | Пространственная неоднородность | Оборудование и реактивы | Сложность анализа | Воспроизводимость | Точность(ошибка определения) | Квалификация исполнителей | Средний балл по методу |
| Численность микрофлоры | Чашечный метод Коха | 4 | 8 | 5 | 2 | 2 | 3 | 5 | 4 | 4 | 5 | 4,1 |
| Качественный состав микрофлоры | Морфо-физиологическая диагностика | 7 | 10 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3,1 |
| Численность микрофлоры | Прямое микроскопирование | 8 | 7 | 8 | 5 | 5 | 4 | 8 | 6 | 6 | 8 | 6,3 |
| Ферментативная активность | Определение концентрации субстрата  (продукта реакции) | 8 | 10 | 10 | 8 | 8 | 8 | 9 | 8 | 10 | 9 | **8,8** |
| Численность мезофауны | Метод раскопок | 5 | 7 | 7 | 3 | 3 | 9 | 9 | 7 | 6 | 8 | 6,2 |
| Биомасса мезофауны | Весовой метод | 5 | 7 | 7 | 5 | 4 | 10 | 9 | 7 | 6 | 10 | 6,7 |
| Состав мезофауны | Метод раскопок | 6 | 8 | 5 | 1 | 2 | 8 | 3 | 2 | 3 | 3 | 4,2 |
| Микроартроподы | Электронная выгонка с последующим определением | 6 | 7 | 4 | 2 | 6 | 7 | 2 | 2 | 3 | 2 | 4,3 |
| Водоросли | Разные методы | 6 | 9 | 6 | 1 | 1 | 6 | 6 | 2 | 6 | 5 | 4,8 |
| «Дыхание» | Адсорбционный метод поглощения СО2 | 8 | 9 | 8 | 1 | 6 | 10 | 10 | 3 | 8 | 10 | 7,0 |
| Нитрификация | Накопление субстратов после инкубации образца | 7 | 9 | 6 | 8 | 8 | 7 | 7 | 4 | 8 | 8 | 7,1 |
| Разложение мочевины | Экспресс-метод Аристовской, Чугуновой | 7 | 7 | 9 | 8 | 8 | 10 | 10 | 4 | 8 | 10 | 7,9 |
| Содержание гумуса | Мокрое озоление хромовой смесью по Тюрину | 8 | 5 | 9 | 9 | 8 | 8 | 8 | 5 | 10 | 9 | 7,8 |
| Состав гумуса | Фракционно-групповой состав по Пономаревой-Плотниковой | 8 | 7 | 4 | 8 | 7 | 7 | 6 | 3 | 8 | 7 | 6,4 |
| Продуктивность, урожайность | Весовой метод | 10 | 7 | 4 | 8 | 8 | 8 | 6 | 4 | 8 | 8 | 7,0 |
| Средний балл по категории | | 6,9 | 7,8 | 6,3 | 4,7 | 5,2 | 7,1 | 6,6 | 4,1 | 6,3 | 6,9 | 6,1 |

**2.3 Изменение ферментативной активности почвы в зависимости от загрязнения**

Многочисленные исследования обнаруживают сильное влияние загрязнения почв на один из важнейших факторов трансформации органического вещества - ферментативную активность. Попадая в почву, фенолы, тяжелые металлы, радиоактивные элементы, ртутные соединения, нефть и другие загрязнители в зависимости от состава и количественного их соотношения по-разному влияют на ферментативную активность почв, способствуя как подавлению, так и активации процессов биохимической трансформации органических веществ.

Ферментативная активность также зависит от изменения микробиологических и других биохимических характеристик, мобилизации в почве органических соединений фосфора, углерода и азота. Для почвенных микроорганизмов и растений, не способных фиксировать азот из атмосферы в процессе жизнедеятельности, азотное питание всегда находится в минимуме, и они реагируют бурным развитием на избыток органического азота в почве, а также минерального.

Под действием экзогенного азота активизируются биохимические процессы гидролиза почвенного органического вещества, в результате увеличивается рост ферментного потенциала почвы. В литературе имеются данные о влиянии соединений азота на дегидрогеназу, каталазу, инвертазу и нитритредуктазу почв. Установлено, что загрязнение почв диоксидом азота вызывает снижение активности дегидрогеназы, каталазы и инвертазы и возрастание активности нитратредуктазы.[20]

Ионы тяжелых металлов ингибируют ферментативные реакции, образуя комплексы с ферментом путем присоединения к активной группе или путем реакции с комплексом «фермент-субстрат». Получена тесная отрицательная корреляция между активностью дегидрогеназы и высокими концентрациями никеля, свинца, кадмия и ванадия. Согласно данным Л.А. Гришиной, при действии высоких концентраций меди и цинка подавлялась активность уреазы и кислой фосфатазы Наиболее эффективными ингибиторами активности кислой фосфатазы являются ртуть, мышьяк, вольфрам и молибден, а щелочной фосфатазы -серебро, кадмий, ванадий и мышьяк. Медь, цинк, свинец и кадмий вызывали подавление активности амилазы, ртуть - целлюлазы, ксилоназы (1000мг/кг) и инвертазы (100 мг/кг). Содержание в почве серебра, ртути, бора, ванадия и молибдена в концентрациях 25 мкмоль/г почвы наиболее сильно ингибировали активность арилсульфатазы. Имеются сведения о снижении активности аскорбатоксидазы при внесении в почву меди и ртути. При внесении в почву свинца в форме Pb(NO3)2 в количествах 500-2000 мг/кг отмечалось снижение активности уреазы и дегидрогеназы.

Под действием тяжелых металлов наблюдается снижение активности важных для функционирования экосистемы биохимических процессов. нитрификации, аммонификации, азотфиксации, разложения клетчатки и др. Реакция на возрастание концентраций тяжелых металлов в почве очень сложна, поэтому не всегда удается правильно и полно объяснитъ полученные результаты.

Загрязнения от объектов железнодорожного транспорта определенного состава могут вызывать активизацию почвенных ферментов. Например, тяжелые металлы в совокупности с другими соединениями способствуют созданию в почве нейтральной реакции среды, оптимальной для действия ряда ферментов, при этом отмечается повышение активности каталазы, дегидрогеназы, сульфидоксидазы. Поступление и накопление в почве фенольных соединений вызывает активизацию фенолоксидазы.

Отмечено, что среди почвенных ферментов дегидрогеназа и уреаза наиболее чувствительны к действию газопылевых выбросов комплексного состава.[21]

Наиболее информационным показателем влияния токсичных газов и тяжелых металлов на почвы является подавление азотфиксирующей активности почвенных микроорганизмов. Аммонификация и нитрификация являются более устойчивыми показателями, а в ряде случаев загрязнение от железнодорожного транспорта вызывает даже активацию этих процессов.

Загрязнение почв нефтью и нефтепродуктами приводит к заметному сдвигу в составе биоты. Почва обогащается микроорганизмами, способными разлагать углеводороды. Имеющиеся в литературе данные указывают на ингибирующее действие различных доз нефти на активность некоторых ферментов. Установлено, что парафиновые и циклопарафиновые углеводороды стимулируют активность фосфатазы, а ароматические углеводороды даже в дозе 0,5% оказывают ингибирующее действие.[22]

**2.4 Наиболее значимые ферментативные показатели**

Наиболее хорошо изученными ферментами в почве являются гидролазы, которые представляют обширный класс ферментов, осуществляющих реакции гидролиза разнообразных сложных органических соединений, действуя на различные связи: сложноэфирные, глюкозидные, амидные, пептидные и др. Гидролазы широко распространены в почвах и играют важную роль в обогащении их подвижными и достаточными для растений и микроорганизмов питательными веществами, разрушая высокомолекулярные органические соединения. К этому классу относятся ферменты уреаза (амидаза), инвертаза (карбогидраза), фосфатаза (фосфогидролаза) и др., активность которых является важнейшим показателем состояния почв.

Уреаза - фермент, участвующий в регуляции азотного обмена в почве. Этот фермент катализирует гидролиз мочевины до аммиака и углекислого газа, вызывая гидролитическое расщепление связи между азотом и углеродом в молекулах органических веществ. Из ферментов азотного обмена уреаза изучена лучше других. Она обнаруживается во всех почвах. Ее активность коррелирует с активностью всех основных ферментов азотного метаболизма. В почве уреаза находится в двух основных формах: внутриклеточной и внеклеточной. Наличие в почве свободной уреазы позволило выделить фермент в кристаллическом виде. Часть внеклеточной уреазы адсорбирована почвенными коллоидами, имеющими высокое сродство к уреазе. Связь с почвенными коллоидами предохраняет фермент от разложения микроорганизмами и способствует его аккумуляции в почве. Каждая почва имеет свой стабильный уровень уреазной активности, определяемый способностью почвенных коллоидов, главным образом органических, проявлять защитные свойства. В почвенном профиле наиболее высокую активность фермента проявляет гумусовый горизонт, дальнейшее распределение по профилю зависит от генетических особенностей почвы. В связи с широким применением мочевины в качестве азотного удобрения, вопросы, связанные с ее превращениями под действием уреазы, являются практически значимыми. Высокая уреазная активность большинства почв препятствует использованию мочевины в качестве универсального источника азотного питания, так как высокая скорость гидролиза мочевины почвенной уреазой приводит к локальной аккумуляции ионов аммония, повышению реакции среды до щелочных значений, и как следствие этого, потерям азота из почвы в виде аммиака. Расщепляя мочевину, уреаза предотвращает изомеризацию её в фототоксичный цианат аммония. Хотя сама мочевина частично используется растениями, однако в результате активного действия уреазы она не может долго сохраняться в почве. В исследованиях ряда ученых отмечено улетучивание из почвы азота мочевины в форме аммиака при высокой активности уреазы, а при внесении в почву различных ингибиторов уреазы замедлялся гидролиз мочевины и потери были меньше. На скорость гидролиза мочевины в почве влияют температура, кислотность почвы. Отрицательное воздействие оказывает насыщенность почвы карбонатами, присутствие в значительных количествах солей мышьяка, цинка, ртути, сульфат-ионов, соединений меди и бора, из органических соединений существенно ингибируют уреазу алифатические амины, дегидрофенолы и хиноны.

Активность инвертазы - один из наиболее устойчивых показателей, обнаруживающий наиболее четкие коррелятивные связи с воздействующими факторами. Исследованиями А.Ш. Галстяна (1966, 1974) установлена корреляция инвертазы с активностью других почвенных карбогидраз. Инвертазная активность в почве убывает по профилю, коррелирует с содержанием гумуса. Корреляция с гумусом может отсутствовать при значительном содержании в почве алюминия, железа, натрия. Тесная связь активности инвертазы с количеством почвенных микроорганизмов и их метаболической активностью свидетельствуют о преимуществе в почве инвертазы микробного происхождения. Однако такая зависимость не всегда подтверждается, активность инвертазы значительно более устойчивый показатель и непосредственно может быть не связана с колебаниями численности микроорганизмов. По сообщению А.Ш.Галстяна (1974) почвы с тяжелым гранулометрическим составом обладают более высокой ферментативной активностью. Однако имеются сообщения, что инвертаза заметно инактивируется при адсорбции глинистыми минералами и почвы с высоким содержанием монтмориллонита обладают низкой инвертазной активностью. Зависимость инвертазной активности от влажности и температуры почвы исследована недостаточно, хотя многие авторы объясняют сезонные изменения активности гидротермическими условиями. Влияние температуры на потенциальную активность инвертазы подробно исследовал А.Ш. Галстян (1975), установив оптимум при температуре около 60°, порог инактивации фермента после прогревания почв при 70° и полную инактивацию после трехчасового прогревания при 180°С. Многими авторами рассмотрена инвертазная активность почв в зависимости от произрастающих растений. Развитие лугового процесса, образование мощной дернины под травянистым покровом способствует увеличению инвертазной активности. Однако имеются такие работы, в которых влияние растений на активность инвертазы не установлено.

В почвах в большом количестве имеется фосфор в форме органических соединений, поступающий с отмирающими остатками растений, животных и микроорганизмов. Высвобождение фосфорной кислоты из этих соединений осуществляется сравнительно узкой группой микроорганизмов, имеющих специфические ферменты фосфатазы. Среди ферментов фосфорного обмена наиболее полно исследована активность ортофосфорных монофосфоэстераз. Продуцентами фосфатаз преимущественно являются клетки почвенных микроорганизмов. Фосфатазная активность почвы определяется ее генетическими особенностями, физико-химическими свойствами и уровнем культуры земледелия. Среди физико-химических свойств почвы для фосфатазной активности особенно важна кислотность. Дерново-подзолистые и серые лесные почвы, имеющие кислую реакцию, преимущественно содержат кислые фосфатазы, в почвах со слабо щелочной реакцией преобладают щелочные фосфатазы. Следует отметить, что оптимум активности кислых фосфатаз находится в слабокислой зоне, даже тогда, когда почвы имеют сильнокислую реакцию. Этот факт подтверждает важность известкования кислых почв для ускорения гидролиза сложных органических фосфатов и обогащения почвы доступным фосфором. Наблюдаемое характерное распределение фосфатаз в почвах в зависимости от их кислотности обусловлено составом микрофлоры. В почве функционируют приспособленные к определенным условиям среды микробные сообщества, которые выделяют ферменты, активные в данных условиях. Суммарная фосфатазная активность почвы зависит от содержания гумуса и органического фосфора, который является субстратом для фермента. Наиболее высокой фосфатазной активностью характеризуются черноземы. В дерново-подзолистых и серых лесных почвах активность фосфатазы невелика. Низкая активность этих кислых почв обусловлена более сильной адсорбцией фосфатаз почвенными минералами. Вследствие малого содержания органического вещества в таких почвах адсорбирующая поверхность минералов больше обнажена по сравнению с высокогумусными черноземами, где глинистые минералы покрыты гумифицированным органическим веществом. Активность фосфатазы динамична в течение вегетационного периода. В активные фазы роста растений при высокой температуре почвы и достаточной влажности в летние месяцы фосфатазная активность почв максимальна. В некоторых почвах отмечена корреляция фосфатазной активности с общей численностью микроорганизмов и количеством микроорганизмов, минерализующих органические соединения фосфора, в других - связь активности фосфатазы с числом микроорганизмов не установлена. Влияние гумуса проявляется в характере изменения активности фермента по профилю, при сопоставлении почв разной степени гумусированности и проведении мероприятий по окультуриванию почвы. Исследования многих авторов свидетельствуют о прямой зависимости фосфатазной активности почв от содержания в почве органического фосфора. Рассмотрим несколько подробнее общие закономерности формирования фосфатазного пула почв. Значительную часть общего фосфора в почве составляют фосфорорганические соединения: нуклеиновые кислоты, нуклеотиды, фитин, лецитин и др. Большинство из встречающихся в почве органофосфатов непосредственно растениями не усваивается. Их поглощению предшествует ферментативный гидролиз, осуществляемый фосфогидролазами. Субстратами почвенных фосфатаз являются специфические гумусовые вещества, включающие фосфор гумусовых кислот, а также не специфические индивидуальные соединения, представленные нуклеиновыми кислотами, фосфолипидами и фосфопротеинами, а также метаболическими фосфатами. Первые накапливаются в почве в результате биогенеза гумусовых веществ, вторые, как правило, поступают в почву с растительными остатками и накапливаются в ней, как продукты промежуточных метаболических реакций. Роль высших растений в формировании фосфатазного пула почв, используемых в сельском хозяйстве, ниже, чем микроорганизмов и связана в основном с поступлением в почву пожнивных остатков и корневых выделений, что подтверждается данными С.Н. Ивлеевой и Т.А. Щербаковой (1994), которые исследовали в вегетационном опыте влияние различных сельскохозяйственных культур на активность гидролитических и окислительно-восстановительных ферментов: фосфатазы, инвертазы, протеазы, уреазы, каталазы на маломощной торфяной почве. Активность фосфатазы оказалась примерно одинаковой под всеми культурами: ячменем, картофелем и черным паром и лишь немного больше под многолетними травами, тогда как активность других ферментов значительно различалась в зависимости от характера использования почв. Самцевич С. А., Борисова В.Н. (1972) отмечают увеличение активности фосфатазы в ризосфере пшеницы и бобовых, что может быть связано как с увеличением численности микроорганизмов в ризосфере, так и с внеклеточной фосфатазной активностью корней. С агрохимической точки зрения важен конечный результат - рост ферментативного пула почв с увеличением мощности корневых систем растений. Обедненность агроценозов растениями приводит к снижению ризосферного эффекта и, как следствие, к уменьшению активности фосфатазы почвы. Отмечено значительное снижение фосфатазной активности почв при возделывании монокультуры. Включение почв в севооборот создает условия для улучшения гидролитических процессов, что приводит к увеличению метаболизма фосфорных соединений. Н.В. Раськова (1994) исследовала дерново-подзолистые почвы, сформированные под естественной (лесной) растительностью разного состава и определяла распределение фосфатазной активности в профиле почвы, соотношение между лабильными и стабильными формами ферментов, пространственную и временную их вариабельность. Установлено, что в почвах, сформированных под естественной лесной растительностью, генетические горизонты различаются по активности фосфатазы, распределение которой в профиле тесно коррелирует с содержанием гумуса. По данным Н.В. Раськовой, наибольшая фосфатазная активность наблюдалась в подстилочном слое, затем в 4 - 18 раз уменьшалась в гумусово-аккумулятивном и резко падала в почвенном слое ниже 20 см в почве под ельником (лесная растительность). Под луговой растительностью несколько иное распределение: максимальная активность в дерновом горизонте, в 1,5-2 раза ниже в гумусово-аккумулятивном, а дальнейшее значительное снижение наблюдается только после 40 - 60 см. На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что максимальный вклад в формирование фосфатазного пула под естественной растительностью вносят микроорганизмы и растительные остатки в качестве субстрата, корневые выделения и постморально поступающие внутриклеточные ферменты играют несколько меньшую роль.

Интенсивность биохимических процессов в почве и уровень её плодородия зависит как от условий существования живых организмов, которые поставляют ферменты в почву, так и от факторов, способствующих закреплению ферментов в почве и регулирующих их актуальную активность.[23]

**Глава 3. Комплексное обследование ферментативной активности почвы как инструмент мониторинга эколого-функционального состояния почвы**

**3.1 Общие представления о мониторинге окружающей среды (ОС)**

Мониторинг окружающей среды – организованная сеть наблюдений для сбора данных о состоянии окружающей среды. Одна из главных его задач – накопление и обработка результатов информации о состоянии окружающей среды.

Контролируемые объекты и компоненты. В сферу экологического контроля входят следующие контролируемые объекты:

1. воды – пресные, поверхностные, морские, подземные, атмосферные осадки, талые, сточные;
2. воздух – атмосферный, природных заповедников (фон), городов и промышленных зон, рабочей зоны;
3. почвы;
4. донные отложения;
5. растения, пища и корма, животные ткани.

Наиболее сложным и трудоемким является почвенно-химический или почвенно-экологический мониторинг.[24]

**3.2 Принципы почвенно-экологического мониторинга**

Оценку эколого-функционального состояния почв можно рассматривать как часть почвенно-экологического мониторинга. В основе почвенного мониторинга должны лежать следующие основные принципы:

1. разработка методов контроля наиболее уязвимых свойств почв, изменение которых может вызвать потерю плодородия, ухудшение качества растительной и животной продукции, деградацию почвенного покрова;
2. постоянный контроль важнейших показателей почвенного плодородия;
3. ранняя диагностика негативных изменений почвенных свойств;
4. разработка методов контроля сезонной динамики почвенных процессов, изменением свойств почв при длительных антропогенных нагрузках.

Среди наиболее уязвимых свойств почв и особо опасных процессов, которые проявляются во всех почвах любых природных зон, - потеря гумуса и изменение его качественного состава, увеличение кислотности или щелочности, изменения состава обменных катионов, загрязнение почв пестицидами, детергентами и другими органическими соединениями, угнетение почвенной биоты.

Невозможно организовать в целях экологического мониторинга эффективные наблюдения, не учитывая взаимосвязь и постоянное взаимодействие природных компонентов, изменение структурно-функциональных характеристик их отдельных звеньев при поступлении ксенобиотиков, которые вызывают изменение других звеньев, функционально с ними связанных. Поэтому выбор чувствительных к антропогенному воздействию показателей состояния экосистемы может меняться в зависимости от задач исследования. Однако, на любом уровне – микроскопическом, локальном или глобальном в ходе почвенно-экологического мониторинга особого внимания заслуживают методы исследования процессов образования и перераспределения в почвах химических веществ.[24]

**3.3 Исследование ферментативной активности почвы**

Как уже говорилось выше, при проведении мониторинга и диагностики состояния почв, в первую очередь, следует определять биохимические показатели: рекомендуются показатели изменения ферментативной активности. Определение ферментативной активности основано на учете количества переработанного в процессе реакции субстрата или образующегося продукта реакции в оптимальных условиях температуры, рН среды, концентрации субстратов, величины навески почвы, времени инкубации. Для количественного определения конечных продуктов реакции применяются различные химические, фотометрические, колометрические, и другие методы. Для качественных измерений наличия ферментов в почве широко используются хроматографические методы.

Сущность методов определения активности ферментов почвы заключается в следующем: навеску почвы насыщают антисептиком, добавляют буферный раствор с рН, оптимальным для данного фермента, и определенное количество субстрата. Реакционную смесь в основном при температуре 30 - 370С выдерживают в термостате в течение определенного времени при периодическом перемешивании и после этого проводят количественный учёт или качественную идентификацию продуктов реакции. Активность фермента выражают в количествах переработанного субстрата или образующегося продукта реакции в течение определенного промежутка времени и рассчитывают на единицу веса почвы или гумуса. Такие условия позволяют определить максимальную потенциальную ферментативную активность почвы. [25]

Таким образом, определив активность некоторого комплекса ферментов (табл.5) можно судить об эколого-функциональном состоянии почвы, а исследовав период восстановления ферментативной активности можно судить о последствиях воздействия загрязняющих веществ на почву (табл.6). Подробно методы определения ферментативной активности будут описаны ниже.

Таблица 5

**Шкала сравнительной оценки ферментативной активности почвы[26]**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Активность | Каталаза,  см3 О2 на г за 1 мин | Дегидрогеназа,  мг ТФФ на 10 г  за 24 ч | Фосфатаза,  мг Р2О5 на 10 г  за 24 ч | Уреаза ,  мг NН3  на 10 г  за 24 ч | Протеаза,  мг альбумина на 10 г за 24 ч | Инвертаза,  мг глюкозы на 1 г  за 24 ч |
| Очень слабая | <1 | 0-3 | >0,5 | >3 | 0-0,5 | >5 |
| Слабая | 1-3 | 3-7 | 0,5-1,5 | 3-10 | 0,5-1,0 | 5-15 |
| Средняя | 3-10 | 7-15 | 1,5-5,0 | 10-30 | 1-2 | 15-50 |
| Высокая | 10-30 | 15-22 | 5-15 | 30-100 | 2-3 | 50-150 |
| Очень высокая | >30 | >22 | >15 | >100 | >3 | >150 |

Таблица 6

**Оценка воздействия загрязняющих веществ на почву[26]**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Период восстановления ферментативной активности, дни | | Оценка последствий |
| Лабораторные условия | Полевые условия |
| 15 | 30 | Не оказывает влияния |
| 15 – 30 | 30 – 60 | Незначительное влияние, но возможны отрицательные последствия |
| >30 | >60 | Существенное влияние, возможны серьезные экологические последствия |

**Глава 4. Материалы и методы**

**4.1 Основные требования, предъявляемые к методам определения активности ферментов в почве**

Почва является сложной гетерогенной системой, в которой большинство биохимических реакций происходят на интерфазе жидкого, твердого и газообразных компонентов. Это создает много методологических проблем при изучении почвенных ферментов. Главная методологическая трудность заключается в необходимости отделения внутриклеточной активности функционально активных микроорганизмов от изучаемой внеклеточной ферментативной активности почвы. Другая трудность заключается в том, что так как почва является сильным адсорбентом, некоторые субстраты и продукты их ферментативной реакции могут сорбироваться почвенными компонентами. Это приводит к искажению результатов их количественного измерения. Поэтому в каждом конкретном случае необходимо это принимать во внимание при выборе субстрата и экстрагентов продуктов реакции.[25]

Активность ферментов максимальна в верхних наиболее биогенных почвенных горизонтах и вниз по почвенному профилю падает, что связано с уменьшением запасов органического вещества, меньшим количеством животных, микроорганизмов, корней растений в нижних горизонтах.[27]

***Инактивация деятельности микроорганизмов в почвенных пробах.*** Ферметативную активность почвы определяют в присутствии почвенных микроорганизмов в реакционной среде. Современные методы почвенной энзимологии дают общую характеристику активности почвенных ферментов, присутствующих в почве вне клеток живых организмов (свободные внеклеточные ферменты и внутриклеточные ферменты, связанные с фрагментами разрушающихся мёртвых клеток микроорганизмов и тканей растений), и ферментов, которые могут выделяться живыми микроорганизмами в процессе определения ферментативной активности почвы в результате неполного ингибирования. Отсюда вытекает главная методологическая проблема почвенной энзимологии: провести эффективную инактивацию роста и физиологических процессов микроорганизмов в почвенной пробе, чтобы предотвратить выделение новых ферментов и в то же время оставить почвенные ферменты неизменёнными и не нарушить химические и физические свойства почвы, что может привести к изменению их активности.

Основное требование к инактиваторам: они не должны разрушать клетки микроорганизмов (плазмолиз) и изменять проницаемость клеточных оболочек для ферментов, субстрата и продуктов реакции. Эффективная инактивация жизнедеятельности микроорганизмов предотвращает поступление в почву дополнительных количеств ферментов, утилизацию субстрата и продуктов реакции микроорганизмами, которые могут значительно исказить истинные значения показателей ферментативной активности исследуемой почвы.

Определение ферментативной активности может дать надёжный результат только в том случае, если концентрация субстрата не снижается в результате обстоятельств, не связанных с ферментативным превращением его, и если концентрация продуктов, образующихся из субстрата под воздействием ферментов, не изменяется вследствие процессов, не связанных с исследуемой ферментативной реакцией (адсорбция, связывание другими соединениями почвы).

На скорость ферментативной реакции влияет множество факторов. К ним относятся температура инкубации, концентрация водородных ионов, состав применяемых буферных растворов, концентрация субстрата, величина навески почвы, наличие различных активаторов и ингибиторов и т. д. При разработке почвенно – энзимологических методов определяют оптимальные значения этих констант, которые для разных групп и даже отдельных ферментов различны.

***Навеска почвы и концентрация субстрата.*** Измерение активности ферментов в почве производят в определенных количествах почвенной пробы. С увеличением навески почвы скорость ферментативной реакции линейно возрастает (рис. 2)



**Рис.2. Влияние количества почвы на скорость ферментативной реакции**

Концентрацию субстрата выбирают с таким расчетом, чтобы скорость ферментативной реакции была постоянной в течение всего периода экспозиции и количество молекул субстрата хватило для насыщения всех молекул ферментов, содержащихся в данной навеске почвы, до конца реакции. Для этого требуют некоторый избыток субстрата. Однако большой избыток субстрата снижает скорость реакции.

Оптимальная концентрация субстрата устанавливается опытным путем для определенных величин навески почвы. Иногда произвольно берут разные навески почвы и концентрации субстратов, что является недопустимым. Для получения сопоставимых данных условия должны быть стандартизированы. В первую очередь необходимо установить минимальную величину навески почвы, в которой с достаточной точностью можно обнаружить активность изучаемого фермента, и соответственно этой навеске определить оптимальную величину концентрации субстрата.

Существенным требованием к субстратам является их хорошая растворимость. Нерастворимые или слаборастворимые субстраты трудно вступают во взаимодействие с ферментами.

***Реакция среды и буферные растворы.*** Скорость ферментативных реакций зависит от значений рН среды. Максимальная активность ферментов проявляется лишь в узком интервале значений рН, которые называют оптимум рН действия данного фермента. Как уменьшение, так и увеличение рН приводит к снижению активности ферментов (рис. 3). Поддержание оптимального и постоянного значений рН в реакционной среде на протяжении опыта при определении ферментативной активности является одним из важных методологических условий. Опытным путем устанавливается значение оптимума рН ферментов. При этом следует учесть, что почвы с различными значениями рН неодинаково влияют на сдвиг рН буферного раствора. Это зависит от буферности самой почвы, существенные сдвиги могут быть в малобуферных кислых и щелочных почвах. При определении оптимумов рН ферментов почвы после прибавления реакционной смеси к почве значение рН суспензии доводится до соответствующей величины значения буферного раствора потенциометрическим титрованием.

При определении ферментативной активности для обеспечения заданной рН используют буферные растворы с величиной рН, соответствующей оптимуму действия данного фермента. Предлагается также определять ферментативную активность почвы при рН почвы, так как почва - сама буферная система. Однако это зависит от цели определения активности фермента. При решении прикладных задач по ферментативной диагностике почв предпочтительно определять активность почвы при почвенном значении рН, а при исследовании чисто фундаментальных почвенно – энзимологических вопросов рН среды должен быть оптимальным для данного фермента.



**Рис.3. Влияние рН среды на активность ферментов**

Важное значение имеет катионно – анионный состав буферного раствора: различные катионы и анионы оказывают неодинаковое влияние на отдельные ферменты и на почвы. Так, фосфат-ионы будут ингибировать фосфатазу, если используется фосфатный буфер при определении фосфатазной активности почвы; ионы аммония могут ингибировать уреазу, если использовать аммиачный буферный раствор. Лимонно-кислые ионы буферных растворов будут связываться с ионами железа, если их много в почве. Другим важным требованием к буферным растворам является, чтобы они не растворяли и экстрагировали из почвы окрашенное органическое вещество, что будет мешать при последующем спектрофотометрическом и титрометрическом анализе продуктов ферментативной реакции. Поэтому экспериментально подбирают необходимый состав буферного раствора для каждого вида фермента и с учетом свойств почвы.

***Температура инкубации.*** Скорость ферментативных реакций зависит от температуры. По мере повышения температуры до определенного значения скорость реакции возрастает, при высоких температурах ферменты денатурируют и теряют свою активность. Низкие температуры снижают ферментативную активность. Максимальную активность ферментов в почве обнаруживают в пределах температур от 45 до 600С (рис.4). Однако активность почвенных ферментов не определяют при оптимальных значениях температуры, так как они сильно отличаются от естественной температуры почвы за вегетативный период. Кроме того, в результате относительной деятельности сроков инкубации (от нескольких часов до нескольких суток) при таких температурных условиях может происходить некоторая термическая инактивация ферментов и разложение некоторых субстратов. Определение активности почвенных ферментов обычно производят при температуре 30 – 500С. Однако, согласно рекомендациям Международного союза по номенклатуре и классификации ферментов, необходимо придерживаться стандартной температуры 30 0С.



**Рис.4. Влияние температуры на активность нуклеазы в почве (выщелоченный чернозем)**

***Продолжительность инкубации.*** Ферментативную активность почвы необходимо определять при начальной скорости реакции и сохранять ее постоянной в течение всего времени экспозиции (рис.5). Скорость ферментативной реакции во времени может падать в результате следующих причин:

1. уменьшения концентрации субстрата ниже насыщающей концентрации, поскольку он расходуется в процессе реакции, а также может адсорбироваться почвой;
2. частичного разрушения самих ферментов во время реакции;
3. влияния образующихся продуктов реакции, особенно на ферменты при длительных сроках.



**Рис.5. Изменение скорости фосфатазной реакции в почве (дерново-подзолистая почва)**

При этом возможны два типа влияния: специфическое торможение активности ферментов продуктами реакции и обратимость ферментативных реакций, так как по закону действующих масс скорость обратимых реакций пропорциональна произведению концентраций реагирующих веществ.

В связи с относительной низкой активностью фермента в почве время компостирования почв с субстратом продолжительное – от нескольких часов до нескольких суток. Необходимо время инкубации сократить до минимума, чтобы исключить отрицательный эффект вышеуказанных факторов и возможность роста колоний некоторых видов микроорганизмов.

***Перемешивание реакционной смеси в процессе инкубации.*** Ферменты в почве находятся преимущественно в адсорбированном или ином связанном состоянии почвенными коллоидами. Постоянный приток субстрата к ферментам и удаление продуктов реакции из зоны действия ферментов достигаются периодическим взбалтыванием реакционной смеси в процессе инкубации. Имеет значение частота встряхивания, которую устанавливают опытным путем при определении активности каждого фермента. Необходимо поддерживать одинаковую периодичность и энергичность встряхивания в процессе инкубации реакционной смеси.

***Количественная экстракция продуктов реакции***. Одним из важных требований к методам почвенной энзимологии является полная экстракция из почвы продуктов ферментативной реакции, по количеству которых измеряют активность фермента. В качестве экстрагентов используют соответствующие буферные растворы, различные растворители. Измеряют количество экстрагированного компонента продуктов ферментативной реакции, который не адсорбируется или минимально адсорбируется почвой. Например, при определении фосфатазной активности лучше измерять количество органической части продуктов гидролиза фенилфосфата или фенолфталеинфосфата, используемых в качестве субстрата – фенола и фенолфталеина, так как ортофосфат активно связывается почвой и по ортофосфату можно получить заниженные показатели ативности.

***Контрольные пробы.*** В почве всегда присутствуют вещества, аналогичные продуктам распада большинства органических веществ, применяемых в качестве субстратов при почвенно-энзимологических исследованиях (глюкоза, аминокислоты, фосфор, аммоний и др.). Поэтому для корректировки результатов определения активности ферментов ставят следующие контрольные опыты.

1. *Контроль на неферментативное превращение субстрата* (контроль без фермента - К.б.ф.). Строго обязателен, особенно при определении активности окислительно-восстановительных ферментов, потому что в почве всегда присутствуют переменно-валентные катионы (Сu, Мn, Мо и др.), способные переносить электроны и осуществлять окислительно-восстановительные превращения. Обычно неферментативный гидролитический распад субстратов в почве незначителен или отсутствует. Для инактивации ферментов параллельные навески почв в реакционных сосудах стерилизуют сухим жаром при 180°С в течение 2-3 ч или автоклавируют при 2 атм. в течение 1 ч несколько раз. При этих условиях ферменты, иммобилизованные в почве, полностью инактивируются. Однако такие контроли нецелесообразны в тех случаях, когда продукты ферментативных реакций определяют фотометрическим методом или титрованием. Нагревание почвы при высокой температуре сильно изменяет её органическое вещество, оно становится растворимым и окрашивает фильтраты. Вместо жёсткой термической инактивации ферментов часто используют специфические химические ингибиторы: соли тяжёлых металлов, цианиды и др. В стерилизованную сухим жаром или обработанную ингибитором почву вносят антисептик, буферный раствор, субстрат и дальше проводят те же самые операции, что и с опытными пробами. В случае применения ингибитора фермента после инкубации в опытные сосуды добавляют такое же количество ингибитора. Могут быть использованы и другие эффективные способы инактивации ферментов при минимальном воздействии на почвенные свойства.

2. *Контроль на почвенные вещества*, учитываемые вместе с продуктами ферментативной реакции (контроль без субстрата -К.б.с). Нестерильную почву обрабатывают толуолом, вносят буферный раствор и соответствующий объём воды вместо субстрата. Дальнейшие операции аналогичны опытным процедурам.

3. *Контроль на чистоту реактивов и субстрата и на спонтанный распад субстрата* (контроль без почвы К.б.п) В реакционные сосуды наливают указанные в соответствующей методике количества субстрата, буфера и антисептика и эту контрольную смесь обрабатывают как опытную. Достаточно поставить один контроль для данной серии реактивов и субстрата.

При определении активности гидролитических ферментов можно ограничиваться постановкой контроля без субстрата и контроля без почвы, так как известно, что неферментативный гидролиз органических соединений в почве незначителен и за короткий срок инкубации при определении ферментативной активности почвы не может вносить существенной коррективы на результаты опыта. Кроме того, проведение этого контроля довольно хлопотно. Однако предварительно следует убедиться в том, что неферментативный гидролиз субстрата в почве не происходит, особенно в случае содержания в почве значительных количеств различных техногенных химических ингредиентов (загрязнителей), для чего ставят несколько контролей без фермента. При определении активности окислительно-восстановительных ферментов достаточен контроль без фермента, так как он включает в себя контроль без субстрата и контроль без почвы. При расчете ферментативной активности почвы (ФАП) сумму показателей контрольных проб вычитают из показателя опытных вариантов (ПР - продукт реакции), разница соответствует количеству продукта, образовавшегося в результате ферментативного превращения субстрата ФАП = ∑ ПР - ∑ К.б.ф., К.б.с, К.б.п. При пересчёте на единицу веса почвы (на 1 г, 100 г и т.д.) продукт фер­ментативной реакции характеризует ферментативную активность почвы.

***Единицы измерения активности ферментов в почве.*** Активность фермента выражают в единицах ферментативного действия, что представляет собой изменения, производимые ферментом в субстрате в определённый отрезок времени при строго определённых условиях: концентрации субстрата, рН, температуре и т.д. Как методы определения активности ферментов, так и выражение результатов измерений активности весьма разнообразны. Для отдельных ферментов предложены крайне различные и произвольные единицы. Например, ферментативную активность выражают в физических изменениях субстрата (изменение вязкости, поляризации, оптической плотности), количествах продуктов реакции, количествах превращенной или остаточной части субстрата, ферментных или энергетических единицах и т.д. Отсутствие стандартных единиц измерения активности ферментов не даёт возможности сопоставить результаты даже при применении единых методов.

Наряду с разработкой стандартных условий определения активности ферментов в почве необходимо стандартизировать и способы выражения величин скорости ферментативных реакций. По-видимому, в настоящее время целесообразно сохранить наиболее широко используемую единицу измерения - количество продуктов ферментативного превращения субстрата (мкг, мг, мл, см3, мкМ и др.) на единицу веса почвы за единицу времени при 30 °С. В то же время, в соответствии с рекомендацией Международного биохимического союза по ферментам (Номенклатура ферментов, 1979) за единицу измерения принята стандартная ферментная единица (ФЕ). 1 ФЕ соответствует такому количеству фермента, которое при заданных условиях катализирует превращение 1 мкМ субстрата в 1 мин. В условиях почвенных ферментов это количество может быть рассчитано на единицу веса почвы (например, на 1 г почвы). Однако в почвенно-энзимологических исследованиях в связи с большой гетерогенностью по составу и состоянию ферментов в почве и незначительной их активности в отличие от чистых ферментных препаратов трудно производить перерасчёты на ферментные единицы. В почве определяется не активность конкретной ферментативной молекулы, а ферментативную активность почвы, т.е. проявление некоторой каталитической функции содержащихся в различном состоянии в почвенной массе ферментов (свободных, внеклеточных, внутриклеточных, иммобилизованных, связанных с клеточными фрагментами). В ферментных единицах может быть выражена активность ферментсодержащих препаратов, получаемых экстракцией из почвы. Это фундаментальное направление в почвенной энзимологии в настоящее время получает своё развитие.[25]

**4.2 Методы определения активности ферментов различных классов**

По типу катализируемых реакций все известные ферменты разделены на шесть классов:

1. Оксидоредуктазы, катализирующие окислительно-восстановительные реакции.
2. Гидролазы, катализирующие реакции гидролитического расщепления внутримолекулярных связей в различных соединениях.
3. Трансферазы, катализирующие реакции межмолекулярного или внутримолекулярного переноса химической группы и остатков с одновременным переносом энергии, заключенной в химических связях.
4. Лигазы (синтетазы), катализирующие реакции соединения двуx молекул, сопряжённые с расщеплением фирофосфатных связей АТФ или другого аналогичного трифосфата.
5. Лиазы, катализирующие реакции негидролитического отщепления или присоединения различных химических групп органических соединений по двойным связям.

6, Изомеразы, катализирующие реакции превращения органических соединений в их изомеры.

В почве широко распространены и довольно подробно изучены оксидоредуктазы и гидролазы, имеющие очень важное значение в почвенной биодинамике.[25]

**4.2.1 Каталаза**

**(Н2О2 : Н2О2 –оксидоредуктаза)**

Каталаза катализирует реакцию разложения перекиси водорода с образованием воды и молекулярного кислорода:

Н2О2 + Н2О2 О2 + Н2О.

Перекись водорода образуется в процессе дыхания живых орга­низмов и в результате различных биохимических реакций окисления органических веществ. Токсичность перекиси водорода определяется его высокой реакционной способностью, которую проявляет синглетный кислород, \*О2 . Его высокая реакционная способность приводит к некон­тролируемым реакциям окисления. Роль каталазы заключается в том, что она разрушает ядовитую для организмов перекись водорода.

Каталаза широко распространена в клетках живых организмов, в том числе микроорганизмов и растений. Высокую каталазную активность проявляют также почвы.

Методы определения каталазной активности почвы основаны на измерении скорости распада перекиси водорода при взаимодействии ее с почвой по объему выделяющегося кислорода (газометрические методы) или по количеству неразложенной перекиси, которое определяют перманганатометрическим титрованием или колориметрическим методом с образованием окрашенных комплексов.

Исследованиями Е.В. Даденко и К.Ш. Казеева установлено, что при хранении образцов активность каталазы из всех ферментов снижается в наибольшей степени, поэтому ее определение необходимо проводить в первую неделю после отбора образцов.

**Метод А.Ш. Галстяна [1978]**

Ход анализа. Для определения активности каталазы используют прибор из двух соединенных резиновым шлангом бюреток, которые заполняют водой и уравновешивают ее уровень. Поддерживание определенного уровня воды в бюретках свидетельствует о достижении температурного равновесия в приборе. Навеску (1 г) почвы вносят в одно из отделений сдвоенной колбы. В другое отделение колбы приливают 5 мл 3-процентного раствора перекиси водорода. Колбу плотно закрывают каучуковой пробкой со стеклянной трубкой, которая соединена с измерительной бюреткой с помощью резинового шланга.

Опыт проводят при температуре 20 °С, так как при другой температуре скорость реакции будет отличаться, что исказит результаты. В принципе важна температура не воздуха, а перекиси, именно она должна быть 20 0С. Если температура воздуха значительно выше 20 0С (летом), рекомендуется проводить анализ в подвале или в другом прохладном помещении. Рекомендованное в таких случаях применение водяной бани с температурой 20°С вряд ли эффективно.

Начало опыта отмечают по секундомеру или песочным часам в тот момент, когда перекись смешивается с почвой, и содержимое сосуда встряхивают. Взбалтывание смеси производят в течение всего опыта, стараясь не касаться колбы руками, держа ее за пробку. Выделяющийся кислород вытесняет из бюретки воду, уровень которой отмечают через 1 и 2 мин. Рекомендация определять количество кислорода через каждую минуту в течение 3 мин ввиду прямолинейности реакции разложения перекиси лишь увеличивает затраты времени на анализ.

Данная методика позволяет одному исследователю за день проанализировать активность каталазы более чем 100 образцов. Удобно проводить анализ вдвоем, используя 5-6 сосудов. При этом один человек непосредственно занимается анализом и следит за уровнем бюретки, а второй следит за временем, записывает данные и моет сосуды.

Контролем служит стерилизованная сухим жаром (180°С) почва. Некоторые почвы, соединения и минералы обладают высокой активностью неорганического катализа разложения перекиси даже после стерилизации - до 30-50 % от общей активности.

Активность каталазы выражают в миллилитрах О2, выделяющегося за 1 мин из 1 г почвы.

Реактивы: 3-процентный раствор Н2О2 . Концентрацию пергидроля обязательно периодически проверяют, рабочий раствор готовят непосредственно перед анализом. Для установления концентрации пергидроля на аналитических весах в мерной колбе емкостью 100 мл взвешивают 1 г Н2О2, объем доводят до метки и взбалтывают. Помещают 20 мл полученного раствора в конические колбы на 250 мл (3 повторности), добавляют 50 мл дистиллированной воды и 2 мл 20-процентной Н2SO4. Затем титруют 0,1 н. раствором КМnО4. 1 мл раствора КМnО4 соответствует 0,0017008 г Н2О2. После установления концентрации пергидроля готовят 3-процентный раствор разбавлением дистиллированной водой. Титровальный раствор КМnО4 готовят из фиксанала и выдерживают несколько дней для установления титра.

**4.2.2 Дегидрогеназы**

**(субстрат : НАД (Ф)-оксидоредуктазы).**

Дегидрогеназы катализируют окислительно-восстановительные реакции путем дегидрирования органических веществ. Они проходят по следующей схеме:

АН2 + В А+ ВН2

В почве субстратом дегидрирования могут быть неспецифические органические соединения (углеводы, аминокислоты, спирты, жиры, фенолы и т.д.) и специфические (гумусовые вещества). Дегидрогеназы в окислительно-восстановительных реакциях функционируют как переносчики водорода и разделяются на две группы: 1) аэробные, передающие мобилизированный водород кислороду воздуха; 2) анаэробные, которые передают водород другим акцепторам, ферментам.

Основным методом обнаружения действия дегидрогеназ является восстановление индикаторов с низким редокс-потенциалом типа метиленовой сини.

Для определения активности дегидрогеназ почвы в качестве водорода применяют бесцветные соли тетразолия (2,3,5-трифенилтетразолий хлористый - ТТХ), которые восстанавливаются в красные соединения формазанов (трифенилформазан - ТФФ).

Ход анализа. Навеску (1 г) подготовленной почвы аккуратно через воронку помещают на дно пробирки емкостью 12-20 мл и тщательно перемешивают. Прибавляют 1 мл 0,1 М раствора субстрата дегидрирования (глюкоза) и 1 мл свежеприготовленного 1-процентного раствора ТТХ. Пробирки помещают в анаэростат или вакуумный эксикатор. Определение проводят в анаэробных условиях, для чего воздух эвакуируют при разрежении 10-12 мм рт. ст. в течение 2-3 мин и ставят в термостат на 24 ч при 30 °С. При инкубировании почвы с субстратами толуол в качестве антисептика не прибавляют, так как; он сильно ингибирует действие дегидрогеназ. Контролем служат стерилизованная почва (при 180°С в течение 3 ч) и субстраты без почвы. После инкубации в колбы добавляют 10 мл этилового спирта или ацетона, встряхивают 5 мин. Полученный окрашенный раствор ТФФ фильтруют и колориметрируют. При очень интенсивной окраске раствор разбавляют спиртом (ацетоном) в 2-3 раза. Используют 10-мм кюветы и светофильтр с длиной волны 500-600 им. Количество формазана в мг рассчитывают по стандартной кривой (0,1 мг в 1 мл). Активность дегидрогеназ выражают в мг ТТФ на 10 г почвы за 24 ч. Ошибка определения до 8 %.

Реактивы:

1) 1-процентный раствор 2,3,5-трифенилтетразолия хлористого;

2) 0,1 М раствор глюкозы (18 г глюкозы растворяют в 1000 мл дистиллированной воды);

3) этиловый спирт или ацетон;

4) трифенилформазан для стандартной шкалы. Для составления калибровочной кривой готовят ряд растворов в этиловом спирте, ацетоне или толуоле с концентрацией формазана (от 0,01 до 0,1 мг формазана в 1 мл) и фотоколориметрируют, как описано выше.

При отсутствии формазана его получают восстановлением ТТХ гидросульфитом натрия (сульфитом аммония, порошком цинка в присутствии глюкозы). Исходная концентрация раствора ТТХ 1 мг/мл. К 2 мл исходного раствора ТТХ добавляют на кончике ланцета кристаллический гидросульфит натрия. Выпавший осадок формазана извлекают 10 мл толуола. В таком объеме толуола содержится 2 мг формазана (0,2 мг/мл). Дальнейшим разведением готовят рабочие растворы для шкалы.

**4.2.3 Инвертаза**

**(β-фруктофуранозидаза, сахараза)**

Инвертаза является карбогидразой, она действует на β-фруктофуранозидазную связь в сахарозе, раффинозе, генцианозе и др. Наиболее активно этот фермент гидролизует сахарозу с образованием редуцирующих сахаров - глюкозы и фруктозы:

инвертаза

С12Н22О11 + Н2О С6Н12О6 + С6Н12О6

сахароза глюкоза фруктоза

Инвертаза широко распространена в природе и встречается почти во всех типах почв. Очень высокая активность инвертазы обнаружена в горно-луговых почвах. Активность инвертазы четко коррелирует с содержанием гумуса и почвенным плодородием. Рекомендуется при изуче­нии влияния удобрений для оценки их эффективности. Методы опреде­ления активности инвертазы почв основаны на количественном учете восстанавливающих сахаров по Бертрану и по изменению оптических свойств раствора сахарозы до и после воздействия фермента. Первый способ может быть применен при изучении фермента с очень широкой амплитудой активности и концентрации субстрата. Поляриметрический и фотоколориметрический способы более требовательны к концентрации сахаров и неприемлемы для почв с высоким содержанием органического вещества, где получаются, окрашенные растворы; поэтому эти методы ограниченно применяются в почвенных исследованиях.

**Модифицированный колориметрический метод Ф.Х. Хазиева**

Ход анализа. Навески (1 г) подготовленной почвы помещают в колбы емкостью 50 мл, добавляют 5 мл 3-процентного свежеприготовленного раствора сахарозы на фосфатном буфере (рН 4,9) и каплю-две толуола. При биодиагностике почв активность инвертазы определяют без добавления буфера - при рН почвы. Колбы закрывают корковыми пробками, осторожно встряхивают и помещают в термостат при 30 0С на 24 ч. Контролем служат субстраты без почвы и почва, стерилизованная сухим жаром, при 180 0С в течение 3 ч. В течение инкубации колбы периодически встряхивают. После инкубации в колбы добавляют 25 мл дистиллированной воды, взбалтывают и фильтруют. В случае высокой активности инвертазы (особенно в горно-луговых и торфянистых почвах с высоким содержанием гумуса) количество добавляемой воды увеличивают до 50-100 мл. В случае низкой активности количество дистиллята уменьшают до 5-10 мл. Разведение учитывают при расчетах активности фермента.

Берут пипеткой 6 мл фильтрата в пробирку объемом 15-20 мл. Добавляют пипеткой 6 мл реактива Феллинга, перемешивают. Пробирку с ярко-синим раствором нагревают на кипящей водяной бане 10 мин. При нагревании часть меди реактива Феллинга восстанавливается и выпадает в осадок красного цвета, при этом раствор осветляется. Далее пробирки охлаждают, содержимое центрифугируют 1-3 мин при 1500-3000 об./мин. Колориметрируют при длине волны 630 нм в кюветах шириной 1 см..

Окрашенный раствор лучше колориметрировать на фотоэлектроколоримотре КФК-3 с непрерывной шкалой, так как использование КФК-2 или .подобных ему приборов с ограниченной шкалой дает неточные результаты, ввиду того что большинство значений ложится в левой недробной половине шкалы.

Количество глюкозы (мг/мл) определяют по калибровочной кривой. Полученные данные умножают на 30 (общий объем раствора). Активность инвертазы выражают в миллиграммах глюкозы на 1 г почвы за 24 ч

Реактивы:

1) свежеприготовленный 3-процентный раствор сахарозы (для хранения раствора в течение нескольких дней добавляют несколько капель толуола);

2) толуол;

3) реактив Феллинга (готовый реактив не хранится и готовится смешиванием двух растворов перед анализом: раствор-1 - 100 г сегнетовой соли (калий-натрий виннокислый) растворяют в дистиллированной воде, прибавляют 75 г КОН или NaOH и доводят объем до 500 мл; раствор-2 - 20 г CuSO4 растворяют в дистиллированной воде и доводят до 500 мл);

4) стандартный раствор глюкозы. Исходный раствор: 6 мг глюкозы в 1 мл дистиллированной воды. Рабочие растворы готовят, доводя 1, 2, 5, 10, 15, 20 мл исходного раствора (соответственно 0,06, 0,12, 0,30, 0,6, 0,9 и 1,2 мг глюкозы в 1 мл раствора) дистиллятом в мерных колбах до 100 мл. Далее к 6 мл растворов добавляют реактив Феллинга и дальше действуют по описанной выше методике.

**4.2.4 Протеазы (пептид-гидролазы)**

Протеолитичеекне ферменты катализируют гидролитическое расщепление белковых веществ до пептидов и гидролиз этих продуктов до аминокислот.

Протеазы делят на две группы: протеиназы и пептидазы. Первые из них расщепляют настоящие белки, а вторые катализируют распад полипептидов и дипептидов до аминокислот. Однако такое деление довольно условно.

При определении активности протеаз в почве в качестве субстрата обычно применяют казеин, желатину и некоторые пептиды. Активность протеаз учитывают по количеству аминокислот или других кислоторастворимых продуктов, освобождающихся при распаде белковых субстратов в почве, либо по изменению физических свойств субстрата, например но уменьшению вязкости.

Колориметрические методы основаны на учете количества аминокислот, образующихся при протеолизе внесенных в почву белков, путем связывания их в окрашенные комплексы.

**Метод А.Ш. Галстяна [1978]**

Ход анализа. 1 г почвы помещают в стеклянную колбу емкостью 50 мл, прибавляют 5 мл 1-процентного раствора желатины или казеина, приготовленного на фосфатном буфере (рН 7,4), и 0,2 мл толуола. Колбу тщательно встряхивают, закрывают корковой пробкой и ставят в термостат на 24 ч при температуре 30 0С, периодически встряхивают. После инкубации добавляют 5 мл воды и содержимое колбы фильтруют. Из фильтрата берут 5 мл раствора в пробирку, прибавляют 0,5 мл 0,1 н. серной кислоты и 3 мл 20-процентного сернокислого натрия для осаждения белков. Затем снова фильтруют в пробирку и добавляют 1 мл 2-процентного раствора нингидрина. Смесь тщательно взбалтывают и нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 мин. Полученный окрашенный раствор из пробирки переливают в мерную колбу объемом 50 мл, объем доводят дистиллированной водой до метки и проводят фотоколориметрирование, используя зеленый светофильтр (длина волны 500-560 нм). Контрольные пробы ставят со стерилизованной сухим жаром почвой и субстратом без почвы. Количество аминокислот в переводе на глицин находят по калибровочной шкале, составленной на чистый глицин.

Активность протеазы выражают в миллиграммах глицина на 1 г почвы за 24 ч.

Реактивы:

1) 1-процентный раствор желатины или казеина в фосфатном буфере (рН 7,4) - при биодиагностике используют водный раствор;

2) толуол;

3) фосфатный буфер (рН 7,4);

4) 0,1 н. Н2SO4;

8) 2-процентный раствор нингидрина: 2 г нингидрина растворяют в 100 мл ацетона. Рабочий раствор готовят, смешивая 95 мл ацетонового раствора с 1 мл СН3СООН и 4 мл воды. Поскольку раствор нестойкий, готовят его только перед употреблением;

7) стандартный раствор глицина: водный раствор глицина концентрации 100 мкг в 1 мл. Путем соответствующих разбавлений готовят рабочие растворы, окрашивают нингидрином (как описано выше) и составляют шкалу.

**4.2.5 . Уреаза (карбамид-амидогидролаза)**

Уреаза гидролизует карбамид (мочевину) до аммиака и углекислого газа:

уреаза

NH2—С—NH2 + Н20 2 NH3 + CO2

║

О

В почве мочевина (карбамид) образуется в процессе превращения азотистых органических соединений - белков и нуклеиновых кислот. В значительном количестве карбамид вносится с навозом и в форме концентрированного азотного удобрения. Образовавшийся в результате уреазной реакции аммиак служит непосредственным источником азотного питания растений. Поэтому активность уреазы является одним из важнейших показателей биологической активности почв. Методы определения активности уреазы почвы основаны на учете количества аммиака, образующегося при гидролизе карбамида.

Ход анализа. Навески (1 г) подготовленной почвы помещают в колбы на 50 мл, добавляют 5 мл 3-процентной мочевины и 1-2 капли толуола. Контролем служат стерилизованная почва (180 °С, 3 ч) и субстраты без почвы. Колбы закрывают корковыми пробками, встряхивают и ставят в термостат при 80 0С на 24 ч. В течение инкубации колбы периодически встряхивают. По окончании инкубации в колбу добавляют 15 мл 1,0 н. раствора KCl и встряхивают в течение 5 мин для вытеснения из почвы аммиака. Содержимое колбы переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют 5-10 мин при 3000 об./мин или фильтруют через складчатый беззольный фильтр. Берут пипеткой 2-10 мл фильтрата (в зависимости от содержания аммиака, в черноземах - 2 мл) в мерную колбу на 50 мл, дистиллированной водой доводят объем до 30 мл, перемешивают. Прибавляют из бюретки 2 мл 30-процентного раствора калия-натрия виннокислого, перемешивают. Прибавляют из бюретки 2 мл реактива Несслера, перемешивают, доводят водой до метки, перемешивают. Колориметрируют на фотоэлектроколориметре в кюветах шириной 30 мм с синим светофильтром (длина волны 400 нм).

Количество аммиака рассчитывают до предварительно составленной калибровочной кривой. Стандартный раствор: 0,1 мг NH3 в 1 мл воды.

Примечание. Дистиллированную воду необходимо проверять на содержание аммиака. Контроль - предварительно стерилизованная сухим жаром почва при 180 0С в течение 3 ч.

Активность уреазы выражается в миллиграммах NН3 на 10 г почвы в сутки:

NН3 = (а - б) · p · 10 / н, где

а - количество аммиака по графику, мг;

б - количество аммиака в контроле по графику, мг;

р - разведение;

н - навеска воздушно-сухой почвы, г.

Реактивы:

1) 3-процентный раствор мочевины;

2) 1 н. раствор КСl (74,5 г хлористого калия растворить в дистиллированной воде и довести до 1 л);

3) 30-процептный раствор сегнетовой соли;

4) реактив Несслера;

5) стандартный раствор NH4Cl в концентрации 0,005 мг N—NH3, в 1 мл.

**4.2.6 Фосфатаза**

**(фосфогидролазы моноэфиров ортофосфорной кислоты)**

При определении фосфатазной активности в качестве субстрата используют различные моноэфиры фосфорной кислоты. Наиболее широко применяют водорастворимые соли фенолфталеинфосфата, фенилфосфата, глицерофосфата, α- или β-натрилфосфата и n-нитрофенилфосфата. .При их ферментативном гидролизе выделяются минеральный фосфор и органический радикал субстрата.

Методы определения фосфатазной активности почвы основаны на количественном учете неорганического фосфора (молибденовокислым аммонием и др.) или спиртовой части гидролизованного субстрата.

**Метод А.Ш. Галстяна и Э.А. Арутюнян [1966]**

Ход анализа. 1 г воздушно-сухой почвы помещают в колбу емкостью 50 мл, добавляют 1 мл воды, прибавляют 1 мл 1 -процентного раствора фенолфталеинфосфата натрия, 1-2 капли толуола. Колбу закрывают корковой пробкой, встряхивают и ставят в термостат на 1 ч при 30 °С. После инкубации прибавляют 45 мл воды, 2 мл 10-процентного NH4OH, взбалтывают и фильтруют через плотный фильтр. Окрашенный в розовый цвет фильтрат колориметрируют на ФЭК с синим светофильтром. В случае мутной вытяжки для просветления раствора перед аммиаком в колбу добавляют 1 мл насыщенного раствора алюмокалиевых квасцов. Контролем служит стерилизованная почва (180 0С, 3 ч) и субстрат без почвы. Количество образующегося фенолфталеина находят по калибровочной кривой, составленной с различными концентрациями спиртового раствора фенолфталеина. Найденный в фильтрате фенолфталеин пересчитывают на отщепленный фосфор. При этом исходят из того, что в фенолфталеинфосфате одна молекула фенолфталеина связана с двумя молекулами фосфорной кислоты.

Активность фосфатазы выражают в миллиграммах Р2О5 на 100 г почвы за 1 ч.

Реактивы:

1) 1-процентный водный раствор фенолфталеинфосфата натрия;

2) 10-процентный NH4OH;

3) насыщенный раствор алюмокалиевых квасцов;

4) стандартный раствор фенолфталеина: 0,01 г фенолфталеина растворяют в 60 мл этанола и объем доводят водой до 100 мл (в 1 мл 0,1 мг фенолфталеина). В мерные колбы емкостью 100 мл берут соответствующие количества стандартного раствора (в мл) с содержанием от 0,1 до 2 мг фенолфталеина и окрашивают, как описано выше.[25]

**4.3 Методика мониторинга эколого-функционального состояния почвогрунтов полосы отвода по показателям ферментативной активности**

**4.3.1 Геолого-географическая характеристика района отбора проб**

При проведении работы был обследован участок железнодорожных путей с отводами, проходящий вдоль ст. Пискаревка. Протяженность участка – 50 м. Железнодорожные пути проходят в непосредственной близости к жилой застройке, к парковой зоне и к территориям промышленных объектов.

Места отбора проб показаны на карте – схеме (рис.6).Пробы отобраны вдоль железнодорожных путей (наличие зеленых насаждений, травяной покров, отсутствие жилой застройки).

**4.3.2 Методика отбора проб и подготовка их к анализу**

Определение точек отбора проб почвы осуществляется в соответствии с настоящим регламентом и ГОСТ 17.4.3.01-83 (СТ СЭВ 3847-82), ГОСТ 17.4.4.02-84. Масса пробы, предназначенная для химического анализа, должна быть не менее 1 кг.

Все пробы должны быть зарегистрированы в журнале отбора проб и пронумерованы. На каждую пробу должен быть заполнен сопроводительный талон в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02-84. Пробы следует упаковывать, транспортировать и хранить в емкостях из химически нейтрального материала. Допускается использование для этих целей полиэтиленовых пакетов. В процессе транспортировки и хранения почвенных проб должны быть приняты меры по предупреждению их вторичного загрязнения. Хранение проб необходимо осуществлять при температуре +5°С. Пробы почвы высушивают до воздушно-сухого состояния по ГОСТ 5180-84. Воздушно-сухие пробы хранятся в стеклянной таре. Пробу почвы подготавливают к анализу следующим образом: почву рассыпают на кальке и разминают пестиком крупные комки, затем выбирают включения - корни растений, насекомых, кости животных, новообразования и друзы гипса, известковые журавлики и другие инородные включения. Далее образец почвы растирают в ступе пестиком и просеивают через сито с диаметром ячеек 1 мм.



**Рис.6. Места отбора проб вдоль железнодорожных путей станции Пискаревка**

**4.3.3 Приготовление посуды и реактивов**

Аппаратура, материалы:

* пипетки стеклянные градуированные вместимостью 10 и 25 мл по ГОСТ 12487-67, соединенные резиновым шлангом;
* весы аналитические;
* мерные колбы вместимостью 100 мл с плотными пробками;
* резиновый шланг для соединения колбы с пипеткой;
* шприц для введения перекиси водорода в колбу с почвой.

Реактивы:

- 3-процентный раствор Н2О2.

**4.3.4 Методика отбора проб, учитывающая вариабельность свойств почв**

**в пространстве**

Важным вопросом при проведении мониторинга эколого-функционального состояния почвогрунтов полосы отвода является вопрос о возможности распространения результатов, полученных на типичном участке при проведении исследования, на прилегающие территории. Этот вопрос является особенно актуальным при исследовании биологических свойств почв, которые отличаются значительной вариабельностью.

Для решения данного вопроса было проведено геостатистическое исследование закономерностей варьирования биологических свойств почвы в пространстве. Объектом исследования была выбрана территория станции Пискаревка, почвы которой являются подзолистыми. Образцы почвы для анализов были отобраны с шагом 50 см на отрезке 50 м. В образцах была определена каталазная активность почвы (табл. 7). Геостатика каталазной активности представлена на рис. 7. По данным каталазной активности была построена полувариограмма (рис. 8). Использование полувариограммы позволяет объективно проанализировать изменения исследуемого признака в пространстве, в частности, оценить однородность территории. Для этого методом максимального правдоподобия была подобрана математическая модель соответствующая полученной полувариограмме [28].



**Рис.7 Геостатика (пространственное варьирование) каталазной активности подзолистой почвы станции Пискаревка**



**Рис.8 Полувариограмма каталазной активности подзолистой почвы станции Пискаревка**

Полученная в результате исследования полувариограмма каталазной активности может быть описана как модель с нулевым радиусом корреляции (т.е. интервал, внутри которого значения каталазной активности пространственно зависимы, отсутствует) или 100% эффектом самородка[[1]](#footnote-1):

γ (h) = c0, где

γ – полувариограмма; h – шаг; с0 – дисперсия, вызванная «эффектом самородка».

Эта модель описывает ситуацию, когда в принятом масштабе никакая структура данных не выявляется, то есть наблюдающаяся вариация, является бесструктурной или «шумом». В этом случае следует констатировать тот факт, что исследуемая территория может быть признана однородной по отношению к каталазной активности при шаге измерений 50 см. Поскольку активность каталазы является характерным показателем биологических процессов в почве [6], то полученные выводы можно распространить на биологические свойства почвы в целом.

Таким образом, было выявлено, что территория станции Пискаревка является однородной по биологическим свойствам почвы. Поэтому прогноз экологических последствий загрязнения почвогрунтов небольшого участка станции Пискаревка (50 м), основанный на биологических показателях, может быть распространен на всю исследуемую территорию.

Вставить методику проведения исследования (ее особенности при именно нашем исследовании – сказать что за основу был взят метод – Галстян. Отметить, что бралась свежая почва, что 2 неудобные колбы и соединения заменены одной небольшой стандартной емкостью с резиновой герметичной пробкой. (стандартной для почвенных исследований). Что емкость и пробка легко стерилизуются и транспортируются и соединяются пластиковыми шлангами с мерными пипетками.

Как проводилась, особо отметить проведения большого количества исследований за рабочую смену, экономический эффект и т.д.

**4.3.5 Результаты исследования проб**

Таблица 7

|  |  |
| --- | --- |
| № пробы | Активность каталазы, мл О2, выделяющегося за 1 мин из 1 г почвы |
| 1 | 6,7 |
| 2 | 6,7 |
| 3 | 7,1 |
| 4 | 8 |
| 7 | 8,7 |
| 8 | 7,6 |
| 9 | 7,9 |
| 10 | 6,3 |
| 11 | 5,9 |
| 12 | 6,1 |
| 13 | 6,1 |
| 14 | 5,7 |
| 15 | 7,7 |
| 16 | 6,7 |
| 17 | 9,7 |
| 18 | 8,7 |
| 19 | 6,7 |
| 20 | 8 |
| 21 | 7,8 |
| 22 | 7,7 |
| 23 | 7,8 |
| 24 | 7,9 |
| 25 | 8,9 |
| 26 | 6,7 |
| 27 | 7,9 |
| 28 | 8,1 |
| 29 | 8,5 |
| 30 | 6,7 |
| 31 | 6,8 |
| 32 | 6,9 |
| 33 | 6,5 |
| 34 | 7,5 |
| 35 | 6,9 |
| 36 | 6,4 |
| 37 | 7,1 |
| 38 | 6,1 |
| 39 | 6,1 |
| 40 | 5,8 |
| 41 | 5,6 |
| 42 | 5,5 |
| 43 | 7,2 |
| 44 | 6,9 |
| 45 | 6,9 |
| 46 | 5,9 |
| 47 | 6,2 |
| 48 | 6,8 |
| 49 | 6,5 |
| 50 | 6,6 |
| 17 | 6,3 |
| 18 | 6,1 |

**4.3.6 Оценка состояния почвогрунтов полосы отвода**

Выявление однородности почвы на станции Пискаревка по биологическим свойствам дает возможность брать пробы для оценки эколого-функционального состояния почвы на небольшом участке данной территории.

Далее предлагается определять активность наиболее хорошо изученных ферментов, которые представлены в табл.5. Для определения ферментативной активности рекомендуется использовать методы, описанные в пункте 4.2.

Так как ферментативная активность наилучшим образом коррелирует с содержанием в почве загрязнений [6], то по полученным значениям ферментативной активности дается оценка состояния почвогрунтов полосы отвода станции Пискаревка.

Пробы почвы также возможно исследовать по периоду восстановления ферментативной активности и по полученным данным оценить последствия загрязнения почв данной территории.

**Выводы:**

1) Проведение геостатического исследования позволяет экономить рабочее время и трудозатраты за счет того, что исследуется небольшой участок всей территории.

2) Геостатическое исследование дает возможность выявлять однородность почвы по биологическим свойствам, что является очень важным в вопросе распространения результатов, полученных на небольшом участке, на прилегающие территории. Нет необходимости исследовать состояние почвогрунтов на всей территории, достаточно отобрать пробы в одном месте. Это дает возможность уменьшить стоимость исследования.

3) Для выявления однородности почвы достаточно определить из всех биологических показателей только каталазную активность, так как она является характерным показателем биологических процессов в почве. Это также дает возможность уменьшить стоимость исследования, поскольку не нужны реактивы для определения других биологических показателей.

4) Исследование каталазной активности может быть проведено по экономичному варианту, позволяющему сократить время проведения исследования, уменьшить расход посуды и трудозатрат.

5) Ферментативная активность исследованного участка почвы оценивается по предложенной классификация – как средняя по каталазной активности. Что позволяет сделать вывод о том, что на момент исследования состояние почвогрунтов полосы отвода можно признать удовлетворительным.

**Глава 5. Эколого-экономическая оценка природоохранных мероприятий**

**5.1 Общие сведения**

Железная дорога – это линейный объект большой протяженности, вдоль которого располагается множество обслуживающих стационарных предприятий. Весь этот комплекс оказывает существенное влияние на природную среду, так же как и природная среда влияет на условия работы железной дороги.

Воздействие железнодорожного транспорта имеет свои особенности. Это прежде всего негативное влияние стационарных предприятий и передвижных объектов (локомотивов, вагонов, контейнеров), определенная концентрация подвижного состава в зонах жилой застройки, что особенно влияет на здоровье людей и санитарное состояние окружающей среды. Сюда же следует отнести и несовершенство технологии перевозочного процесса; сверхнормативные сроки службы перевозочных средств; недостаточные темпы изменения структуры вагонного парка в сторону его специализации и большую долю неисправного парка вагонов, используемых под массовые перевозки, что тоже не способствует их сохранности.

Причиной загрязненности территорий железнодорожных путей и предприятий являются также утечки нефтепродуктов на пути и межпутья из цистерн во время перевозок, разлив смазочных материалов во время заправки букс колесных пар на приемо-отправочных и экипировочных пунктах, попадание на поверхность земли масла при экипировке локомотивов и нефтепродуктов на территории складов горюче-смазочных материалов. Кроме того, смазка попадает на путь из букс, особенно при остановке и трогании поездов с места.

В полосе отвода в процессе эксплуатации железных дорог почва загрязняется перевозимыми грузами, особенно нефтепродуктами. Нефтяное загрязнение создает новую экологическую обстановку, что приводит к глубокому изменению всех звеньев естественных биоценозов или их полной трансформации. Общая особенность всех нефтезагрязненных почв – изменение численности и ограничение видового разнообразия педобионтов (почвенной мезо- и микрофауны и микрофлоры). Загрязнение нефтепродуктами приводит к массовой гибели почвенной мезофауны: через три дня после аварии большинство видов почвенных животных полностью исчезает или составляет не более 1% контролируемых. Наиболее токсичными для них оказываются легкие фракции нефти. Комплекс почвенных микроорганизмов реагирует на нефтяное загрязнение повышением валовой численности и усилением активности. Прежде всего это относится к углеводородокисляющим бактериям, количество которых резко возрастает относительно незагрязненных почв. В процессе разложения нефти в почвах общее количество микроорганизмов приближается к фоновым значениям, но численность нефтеокисляющих бактерий еще долгое время превышает численность тех же групп в незагрязненных почвах.

Изменение экологической обстановки приводит к подавлению фотосинтезирующей активности растительных организмов. Прежде всего это сказывается на развитии почвенных водорослей: от их частичного угнетения и замены одних групп другими до выпадения отдельных групп или полной гибели всех водорослей. Особенно значительно подавляют развитие водорослей сырая нефть и минеральные воды.

Изменяются фотосинтезирующие функции высших растений, в частности злаков. Эксперименты показали, что при высоких дозах загрязнения (более 20 л/м2) растения даже через год не могут нормально развиваться на загрязненных почвах.[29]

Для обеспечения экологической безопасности железнодорожного транспорта разрабатываются новые технологии, позволяющие исключить возможность загрязнения окружающей среды, а также оборудование для очистки загрязненных грунтов и земляного полотна. Одной из наиболее эффективных и универсальных технологий является микробиологическая очистка грунтов.

Биологические методы очистки грунтов и почв находят все более широкое применение и в нашей стране, и особенно за рубежом. Они основаны на способности различных групп живых организмов в процессе жизнедеятельности разлагать или аккумулировать в своей биомассе многие загрязнители.

Биологические методы имеют ряд преимуществ, в первую очередь - это экологическая чистота и безопасность, а также минимальное нарушение физического и химического состава очищаемых объектов. Большинство технологий биологической очистки являются дешевыми и не очень трудоемкими. Их эффективность высока при низких концентрациях нефтепродуктов, когда большинство других методов уже не работает.

Хронические разливы нефти являются серьезной угрозой окружающей среде и здоровью людей. Они приводят к нарушению функционирования почвенных микробных сообществ и быстрой потере продуктивности земель.

Изучение микробиологических параметров почвы показало, что загрязнение почвы смесью углеводородов приводит к увеличению численности и активности микроорганизмов почвенного сообщества.

Для повышения эффективности экологического контроля почвы от углеводородов нефти предлагается применение биологических методов. Одним из таких методов является определение ферментативной активности микроорганизмов почвы. Способность микроорганизмов разрушать углеводороды определяется активностью их ферментов. Известно шесть классов ферментов: оксиредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы, лигазы. Все они очень важны в процессе очистки почвы от нефтепродуктов. Особенно большая роль принадлежит оксиредуктазам, осуществляющим первые этапы разрушения соединений почвы до более простых, которые затем подвергаются деструкции с помощью других ферментов.

Главным фактором, определяющим активность ферментов, является наличие в почве питательных веществ. Кроме этого, чем сильнее загрязнение почвы, тем меньше ее ферментативная активность.[30]

**5.2 Определение величины предотвращенного экологического ущерба**

Экономический ущерб от ухудшения и разрушения почв и земель под воздействием антропогенных нагрузок проявляется главным образом в деградации почв и земель; загрязнении земель химическими веществами; захламлении земель несанкционированными свалками, другими видами несанкционированного и нерегламентированного размещения отходов.

Общая величина предотвращенного ущерба (ПЗ) от ухудшения и разрушения почв и земель в рассматриваемом районе определяется суммированием всех видов предотвращенных ущербов.

Расчетная формула имеет следующий вид:

, где

 - величина предотвращенного в результате природоохранной деятельности ущерба от деградации почв и земель на рассматриваемой территории, тыс.руб./год;

 - величина предотвращенного в результате природоохранной деятельности ущерба от загрязнения земель химическими веществами на рассматриваемой территории, тыс.руб./год.[31]

**5.3 Расчет величины предотвращенного в результате природоохранной деятельности экологического ущерба от ухудшения и разрушения почв и земель**

Оценка величины предотвращенного экологического ущерба от деградации почв и земель в результате осуществления природоохранных мероприятий производится по формуле:

, где

НС – нормативная стоимость земель, тыс. руб./га (прил. 5) [31];

S – площадь почв и земель, сохраненная от деградации в результате проведенных природоохранных мероприятий, га;

kП – коэффициент природохозяйственной значимости почв (прил. 6) [31].

Норматив стоимости освоения новых земель НС для Ленинградской области и Санкт - Петербурга в ценах 2008 года составляет 81∙12=972тыс.руб./га;

Площадь железнодорожной станции Пискаревка и прилегающей к ней территории составляет 5,8 га;

kП = 1.

Тогда величина предотвращенного в результате природоохранной деятельности экологического ущерба от деградации почв и земель на рассматриваемой территории составит:

= 972 ∙ 5,8 ∙ 1 ≈ 5638 тыс.руб.

Оценка величины предотвращенного экологического ущерба от загрязнения земель химическими веществами производится по формуле:

, где

kon - коэффициент, учитывающий класс опасности отхода (прил. 8) [31];.

Нефтепродукты относятся к отходам 3-го класса опасности, следовательно, kon = 2.

Предотвращенный экологический ущерб от загрязнения земель нефтепродуктами:

= (972 · 5,8 · 1) · 2 ≈ 11275 тыс.руб.

# Суммарная величина предотвращенного экологического ущерба от разрушения и загрязнения нефтепродуктами почв на рассматриваемой территории составит:

ПЗ= 5638 + 11275 ≈ 16913 тыс.руб.

Расчет суммарной величины предотвращенного в результате природоохранной деятельности экологического ущерба от деградации и загрязнения почв сведен в табл.8

Таблица 8

**Расчет суммарной величины предотвращенного ущерба**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Экономические показатели | Символ, формула | Единица измерения | Величина показателя |
| Предотвращенный экологический ущерб от деградации почв и земель |  | тыс.руб. | 5638 |
| Предотвращенный экологический ущерб от загрязнения земель нефтепродуктами |  | тыс.руб. | 11275 |
| Суммарная величина предотвращенного экологического ущерба от разрушения и загрязнения нефтепродуктами почв на рассматриваемой территории |  | тыс.руб. | 16913 |

**Выводы**

1. Рассчитан предотвращенный экологический ущерб от деградации почв и земель.
2. Рассчитан предотвращенный экологический ущерб от загрязнения земель нефтепродуктами.
3. Рассчитана суммарная величина предотвращенного экологического ущерба от разрушения и загрязнения нефтепродуктами почв на рассматриваемой территории.

Глава 6. Охрана труда

6.1 Рабочее освещение производственных объектов

Правильно спроектированное и рационально выполненное освещение производственных помещений оказывает положительное психофизиологическое воздействие на работающих, способствует повышению эффективности и безопасности труда, снижает утомление и травматизм, сохраняет высокую работоспособность.

Классификация производственного освещения. При освещении производственных помещений используют *естественное освещение*, создаваемое прямыми солнечными лучами и рассеянным светом небосвода и меняющемся в зависимости от географической широты, времени года и суток, степени облачности и прозрачности атмосферы; *искусственное освещение*, создаваемое электрическими источниками света, и *комбинированное освещение*, при котором недостаточное по нормам естественное освещение дополняют искусственным.

Конструктивно *естественное освещение* подразделяют на боковое (одно- и двухстороннее), осуществляемое через световые проемы в наружных стенах; верхнее – через аэрационные и зенитные фонари, проемы в кровле и перекрытиях; комбинированное – сочетание верхнего и бокового освещения.

*Искусственное освещение* по конструктивному исполнению может быть двух видов – общее и комбинированное. Систему *общего освещения*  применяют в помещениях, где по всей площади выполняются однотипные работы (литейные, сварочные, гальванические цехи), а также в административных, конторских и складских помещениях. Различают общее равномерное освещение (световой поток распределяется равномерно по всей площади без учета расположения рабочих мест) и общее локализованное освещение (с учетом расположения рабочих мест).

При выполнении точных зрительных работ в местах, где оборудование создает глубокие, резкие тени или рабочие поверхности расположены вертикально, наряду с общим освещением применяют *местное*. Совокупность местного и общего освещения называют *комбинированным* освещением. Применение одного местного освещения внутри производственных помещений не допускается, поскольку образуются резкие тени, зрение быстро утомляется и создается опасность производственного травматизма.

По функциональному назначению искусственное освещение подразделяют на рабочее, аварийное и специальное, которое может быть охранным, дежурным, эвакуационным, бактерицидным и др.

*Рабочее освещение* предназначено для обеспечения нормального выполнения производственного процесса, прохода людей, движения транспорта и является обязательным для всех производственных помещений.

*Аварийное освещение* устраивают для продолжения работы в тех случаях, когда внезапное отключение рабочего освещения (при авариях) и связанное с этим нарушение нормального обслуживания оборудования могут вызвать взрыв, пожар, отравление людей, нарушение технологического процесса и т.д.

*Эвакуационное освещение* предназначено для обеспечения эвакуации людей из производственного помещения при авариях и отключении рабочего освещения.

*Охранное освещение* устраивают вдоль границ территорий, охраняемых специальным персоналом.

*Сигнальное освещение* применяют для фиксации границ опасных зон; оно указывает на наличие опасности либо на безопасный путь эвакуации.

Основные требования к производственному освещению. Основной задачей производственного освещения является поддержание на рабочем месте освещенности, соответствующей характеру зрительной работы. Увеличение освещенности рабочей поверхности улучшает видимость объекта за счет повышения их яркости, увеличивает скорость различения деталей, что сказывается на росте производительности труда.

При организации производственного освещения необходимо обеспечить равномерное распределение яркости на рабочей поверхности и окружающих предметах. Перевод взгляда с ярко освещенной на слабо освещенную поверхность вынуждает глаз переадаптироваться, что ведет к утомлению зрения и соответственно к снижению производительности труда. Для повышения равномерности естественного освещения больших цехов осуществляется комбинированное освещение. Светлая окраска потолка, стен и оборудования способствует равномерному распределению яркостей в поле зрения работающего.

Производственное освещение должно обеспечивать отсутствие в поле зрения работающего резких теней. Наличие резких теней искажает размеры и формы объектов различения и тем самым повышает утомляемость, снижает производительность труда. Особенно вредны движущиеся тени, которые могут привести к травмам. Тени необходимо смягчать, применяя, например, светильники со светорассеивающими молочными стеклами, при естественном освещении, используя солнцезащитные устройства (жалюзи, козырьки и др.).

Для улучшения видимости объектов в поле зрения работающего должна отсутствовать прямая и отраженная блескость. *Блескость –* это повышенная яркость светящихся поверхностей, вызывающая нарушение зрительных функций (ослепленность), т. е. ухудшение видимости объектов. Блескость ограничивают уменьшением яркости источника света, правильным выбором защитного угла светильника, увеличением высоты подвеса светильников, правильным направлением светового потока на рабочую поверхность, а также изменение угла рабочей поверхности. Там, где это возможно, блестящие поверхности следует заменять матовыми.

Колебания освещенности на рабочем месте, вызванные, например, резким изменением напряжения в сети, обуславливают переадаптацию глаза, приводя к значительному утомлению. Постоянство освещенности во времени достигается стабилизацией плавающего напряжения, жестким креплением светильников, применение специальных схем включения газоразрядных ламп.

При организации производственного освещения следует выбирать необходимый *спектральный состав светового потока*. Это требование особенно существенно для обеспечения правильной цветопередачи, а в отдельных случаях для усиления цветовых контрастов. Оптимальный спектральный состав обеспечивает естественное освещение. Для создания правильной цветопередачи применяют монохроматический свет, усиливающий одни цвета и ослабляющие другие.

Осветительные установки должны быть удобны и просты в эксплуатации, долговечны, отвечать требованиям эстетики, электробезопасности, а также не должны быть причиной возникновения взрыва и пожара. Обеспечение указанных требований достигается применением защитного зануления или заземления, ограничением напряжения питания переносных и местных светильников, защитой элементов осветительных сетей от механических повреждений и т. п.

Источники света и осветительные приборы. Источники света, применяемые для искусственного освещения, делят на две группы - *газоразрядные лампы и лампы накаливания*. *Лампы накаливания* относятся к источникам света теплового излучения. Видимое излучение в них получается в результате нагрева электрическим током вольфрамовой нити. В *газоразрядных лампах* излучение оптического диапазона спектра возникает в результате электрического разряда в атмосфере инертных газов и паров металлов, а также за счет явлений люминесценции, которое невидимое ультрафиолетовое излучение преобразует в видимый свет.

При выборе источников света для производственных помещений необходимо руководствоваться общими рекомендациями: отдавать предпочтение газоразрядным лампам как энергетически более экономичным и обладающим большим сроком службы; для уменьшения первоначальных затрат на осветительные установки и расходов на их эксплуатацию необходимо по возможности использовать лампы наибольшей мощности, но без ухудшения при этом качества освещения.

Создание в производственных помещениях качественного и эффективного освещения невозможно без рациональных светильников. *Электрический светильник -* это совокупность источника света и осветительной арматуры, предназначенной для перераспределения излучаемого источником светового потока в требуемом направлении, предохранения глаз рабочего от слепящего действия ярких элементов источника света, защиты источника от механических повреждении, воздействия окружающей среды и эстетического оформления помещения.

Нормирование производственного освещения. Естественное и искусственное освещение в помещениях регламентируется нормами СНиП 23-05-95. «Естественное и искусственное освещение» в зависимости от характера зрительной работы, системы и вида освещения, фона, контраста объекта с фоном. Характеристика зрительной работы определяется наименьшим размером объекта различения (например, при работе с приборами – толщиной линии градуировки шкалы). В зависимости от размера объекта различения все виды работ, связанные со зрительным напряжением, делятся на восемь разрядов, которые в свою очередь в зависимости от фона и контраста объекта с фоном делятся на четыре подразряда.

Искусственное освещение нормируется количественными (минимальной освещенностью Еmin) и качественными показателями (показателями ослепленности и дискомфорта, коэффициентом пульсации освещенности kE). Принято раздельное нормирование искусственного освещения в зависимости от применяемых источников света и системы освещения.

При определении нормы освещенности следует учитывать также ряд условий, вызывающих необходимость повышения уровня освещенности, выбранного по характеристике зрительной работы. Увеличение освещенности следует предусматривать, например, при повышенной опасности травматизма или выполнении напряженной зрительной роботы I...IV разрядов в течение всего рабочего дня. В некоторых случаях следует снижать норму освещенности, например, кратковременном пребывании людей в помещении. [32]

**6.2 Расчет искусственного освещения рабочего места**

Освещенность рабочих поверхностей является одной из важнейших характеристик производственной среды. Недостаточная или избыточная освещенность приводит к значительному снижению производительности и качества труда, увеличивает вероятность несчастных случаев, приводит к возникновению профессионального заболевания зрительного анализатора.

Рабочее освещение на основании технико-экономического обоснования может проектироваться в виде системы общего или комбинированного освещения. Система общего освещения может быть равномерной или локализованной. При равномерной системе общего освещения осветительные приборы (ОП) равномерно распределяются в верхней зоне, при локализованной - с учетом расположения рабочих мест.

Комбинированная система - это совокупность общего и местного освещения. Местное освещение, как дополнение к общему, предназначено только для конкретного рабочего места. Устройство только одного местного освещения запрещается нормами, так как ухудшаются условия работы зрительного анализатора из-за существенных перепадов освещенности в периферийном поле зрения человека.

Важное значение в обеспечении благоприятных условий для зрительной работы имеет качество освещения.

В производственных помещениях, кроме освещенности, нормируются качественные характеристики осветительной установки (ОУ):

* коэффициент пульсации освещенности (для газоразрядных источников света);
* показатель ослепленности;
* коэффициент, учитывающий неравномерность освещенности в зоне рабочих мест.

Качественными характеристиками наружных ОУ являются показатель ослепленности и коэффициент неравномерности освещенности в рабочих зонах. [33]

В помещениях общественных и вспомогательных зданий качество освещения характеризуется показателями дискомфорта, значением цилиндрической освещенности и коэффициентом пульсации освещенности [34].

Расчет систем освещения рационально проводить в последовательности, показанной на рис.9. [33]

Определение нормированной освещенности и качественных характеристик ОУ

Проверка качественных характеристик ОУ на соответствие нормам

Выбор системы

освещения

Технико-экономическое обоснование выбранного варианта освещения

Выбор метода

светотехнического расчета

Расчет количества ОП, освещенности или светового потока ИС

Размещение ОП

в освещаемом пространстве

Расчет

установленной мощности ОУ

Выбор типа

ОП и ИС

нет

**Рис.9 Алгоритм расчета освещения производственного объекта**

Условные сокращения и обозначения:

ОУ – осветительная установка;

ОП – осветительный прибор;

ИС – источник света.

Определение нормированной освещенности и качественных характеристик ОУ. Согласно извлечениям из СНиП 23.05-95 «Естественное и искусственное освещение» к экологической лаборатории предъявляют следующие требования:

* освещение – общее равномерное;
* нормированная освещенность Ен = 300 лк;
* коэффициент пульсации освещенности kп = 20%.

Выбор системы освещения. Рекомендуемая равномерная система общего освещения полностью удовлетворяет условиям работы в лаборатории.

Выбор типа ОП и ИС. Для помещения лаборатории с общей системой освещения наиболее рационально будет использовать люминесцентные лампы (ЛЛ) в осветительных приборах (количество ламп - 2 штуки). Световой поток одной лампы равен:

, где

Ф – световой поток ИС, лм;

Ен – нормированная освещенность, лк (Ен = 300лк);

S – освещаемая площадь, м2;

z – коэффициент отношения средней освещенности к минимальной (z = 1,1 для люминесцентных ламп);

k – коэффициент запаса, учитывающий старение ИС и загрязнение ОП и ИС (для производственных помещений (с содержанием пыли, дыма и копоти менее 1 мг/м3) с газоразрядными лампами принимается 1,5 );

N – количество ОП, которое намечается до расчета, исходя из габаритов помещения, шт.

n – число ИС в ОП, шт.

η – коэффициент использования светового потока, определяется в зависимости то индекса помещения.

Индекс помещения определяется по формуле:

, где

h – высота подвеса ОП над рабочей поверхностью, м (h = 2 м)

A и В –длина и ширина лаборатории, м (А=7 м, В= 4 м).



По таблице для помещения с индексом 1,25 определяем коэффициент использования светового потока, который будет равен η = 0,47.

На 1 м2 требуется ИС с мощностью 35 Вт, так как площадь лаборатории составляет 28 м2, то требуется 8 ОП с количеством ламп – 2 штуки.

Теперь мы можем определить световой поток источника света:



В лаборатории находится 12 ОП с количеством ламп – 2 штуки:



### По расчетному световому потоку с учетом допустимого отклонения (+20%) по справочной литературе [33] подбираем типовой источник света - люминесцентные лампы в осветительных приборах, тип люминесцентных ламп - ЛДЦ (световой поток одной лампы – 2200 лм).

Теперь, когда определены основные условия освещения, можно приступать к определению количества ОП:



**Вывод:** для искусственного освещения лаборатории площадью 28 м2 необходимо 7 осветительных приборов с двумя источниками света типа ЛДЦ (световой поток - 2200лм) в каждом.

**Глава 7. Безопасность жизнедеятельности в чрезвычайных ситуациях**

**7.1 Обеспечение безопасности железнодорожных путей и ликвидация аварийных ситуаций при перевозке опасных грузов (ОГ)**

На железнодорожной станции Пискаревка производится формирование и расформирование составов из вагонов-цистерн, перевозимых хлор (Cl2).

Вид отправки хлора – повагонная.

Грузовместимость вагона – 57,5 т, стандартная грузовместимость – 47,6т.

Требуется:

1) охарактеризовать транспортную опасность перевозимого опасного груза;

2) изложить требования безопасности при транспортировке опасного груза железнодорожным транспортом;

3) определить порядок необходимых действий по ликвидации аварийной ситуации с опасным грузом.

**7.2 Характеристика транспортной опасности при перевозке хлора**

Общие понятия об опасных грузах и транспортной опасности. К опасным грузам относятся вещества, материалы и изделия, обладающие опасными физико-химическими свойствами, проявление которых при нарушении условий транспортного процесса может привести к гибели или заболеванию людей и животных, нанести вред окружающей среде и причинить материальный ущерб. Поэтому эти грузы при перевозке представляют собой определенную транспортную опасность и требуют строгого соблюдения специальных условий и установленных правил безопасности, принятия мер предосторожности при их погрузке, транспортировке и выгрузке.

Транспортная опасность - это обобщенная характеристика опасных физико-химических свойств груза, указывающая на его неблагоприятное влияние в определенных условиях транспортного процесса на обслуживающий персонал и население, окружающую природную и техногенную среду. К таким обобщенным характеристикам опасных грузов, обуславливающим вид транспортной опасности, относятся: взрывоопасность, пожароопасность, окисление, ядовитость (токсичность), инфекционность, радиоактивность, едкость или коррозионность.

*Взрывоопасность вещества -* это его способность под воздействием внешнего импульса к внезапному и мгновенному превращению (взрыву), представляющему опасность для жизни людей и окружающей среды в результате воздействия выделяющейся тепловой энергии, образования и распространения в пространстве воздушной ударной волны и резкого скачка избыточного давления, дробления окружающей среды и разброса осколков и отдельных обломков на значительные расстояния.

*Пожароопасность вещества* - это его способность к само- или легковоспламенению, поддержанию или ускорению процесса горения, то есть к возникновению или быстрому развитию пожара.

*Окисление* - способность вещества, в основном групп соединений кислорода и водорода, при взаимодействии с другими веществами разлагаться с выделением кислорода или водорода и образовывать самовоспламеняющиеся и взрывчатые смеси, то есть приводить к возникновению пожаров и взрывов.

*Ядовитость (токсичность) и инфекционность* - это свойства вещества нарушать биохимические функции и поражать (отравлять) организм, вызывая при вдыхании, попадании внутрь желудка (проглатывании), в глаза и на кожу заболевание или смерть людей и животных, заражение окружающей природной среды.

*Радиоактивность* - самопроизвольный распад ядер атомов некоторых химических элементов, сопровождающийся испусканием ионизирующих излучений, которые вызывают изменения физических и химических свойств веществ и материалов, внутриклеточных связей и гибель клеток живых организмов.

*Едкость и коррозионноеть* - способность вещества, в основном кислот и оснований (щелочей), вызывать при непосредственном контакте некроз (отмирание) живых тканей организма или коррозию (разрушение) металлов и других материалов.[35]

Основные свойства хлора.Хлор (Cl2) –желто – зеленый газ с резким, раздражающим запахом, в 2,5 раза тяжелее воздуха. Облако зараженного воздуха скапливается в низких участках местности, может проникать в нижние этажи и подвальные помещения зданий. Газ плохо растворяется в воде, но хорошо – в некоторых органических растворах. Температура кипения 34,10С ниже нуля, при обычном давлении затвердевает при 1010С ниже нуля. Перевозится хлор в сжиженном состоянии.

Находит широкое применение в промышленности, в том числе для отбеливания тканей и бумажной массы, в производстве пластмасс, каучуков, растворителей, в цветной металлургии, а также в коммунально – бытовом хозяйстве для обеззараживания питьевой воды.[36]

Взрыво- и пожароопасность. Хлор не горюч, но поддерживает горение, пожароопасен в контакте с горючими материалами. Емкости с хлором могут взрываться при нагревании. Взаимодействие с металлами при увлажнении может вызвать образование воспламеняющихся (горючих) газов. [37]

Краткая физико – химическая характеристика хлора:

* плотность: 1,553 т/м3;
* температура кипения : - 34,10С;

Токсодозы средние ингаляционные:

* пороговые: 0,3 мг·мин/л;
* смертельные: 6,0 мг·мин/л;

Характерный запах: резкий удушливый.

Содержание хлора в воздухе:

* ПДК в рабочих помещениях – 0,001 г/м3;
* Порог ощущения – раздражающее действие при концентрации 0,01 г/м3.[38]

Опасность для человека. Возможен смертельный исход при концентрации 0,25 г/м3 и вдыхании в течение 5 минут.

Хлор опасен при: вдыхании, попадании на кожу, попадании в глаза. При вдыхании воздуха с высокими концентрациями хлора признаками отравления являются одышка, удушье, синюшность кожи, возбуждение, шумное клокочущее дыхание, потеря сознания, при средних и низких концентрациях - резкие загрудинные боли, мучительный сухой кашель, одышка, обильная пенистая мокрота, сердцебиение; при попадании хлора на кожу и в глаза- химический ожог. При взрывах возможны травмы. [37]

Классификационный шифр хлора – 2243. Определим свойства хлора по классификационному шифру.

* первая цифра классификационного шифра - 2 указывает на то, что хлор относится ко второму классу - сжатым и сжиженным газам (СГ);
* вторая цифра - 2 означает, что данный газ относится ко второму подклассу, то есть является ядовитым невоспламеняющимся;
* третья цифра - 4 определяет отнесение этого газа к четвертой категории второго подкласса. Номера категорий любого подкласса определяются в табл. 2.1 [35] по порядковому размещению соответствующих групп номеров знаков опасности. Для четвертой категории второго подкласса и класса - это четвертая по счету группа номеров знаков опасности, она составляет 2,6а/5,8, которые соответствуют номерам классов и видам транспортной опасности и указывают на наличие в данном газе, кроме основных опасных свойств (2 - газ, 6а - ядовитый), еще и дополнительных: 5 - окисляющий и 8 - едкий или коррозионный газ;
* четвертая цифра классификационного шифра - 3 означает, что этот газ относится ко второй группе (степени опасности), то есть является сжиженным.

Степень токсичности. Хлор относится ко 2-ой степени токсичности, т.е. является высоко опасным. Основные показатели и критерии оценки токсичности хлора приведены в табл.1.

Таблица 9

**Основные показатели и критерии оценки токсичности хлора**

**(ГОСТ 12.1.007-76)**

|  |  |
| --- | --- |
| Основные показатели | Нормы для 2–ой степени токсичности (высоко опасной) |
| ПДК в воздухе рабочей зоны, мг/м3 | 0,1-1 |
| ССК при проглатывании, мг/м3 | 15-150 |
| ССК при попадании на кожу, мг/кг | 100-500 |
| ССК (Д) в воздухе (при вдыхании), мг/м3 | 500-5000 |
| КВИО | 300-30 |

Условные обозначения*:*

ПДК – предельно допустимая концентрация вредных веществ в воздухе рабочей зоны;

ССК – средняя смертельная концентрация;

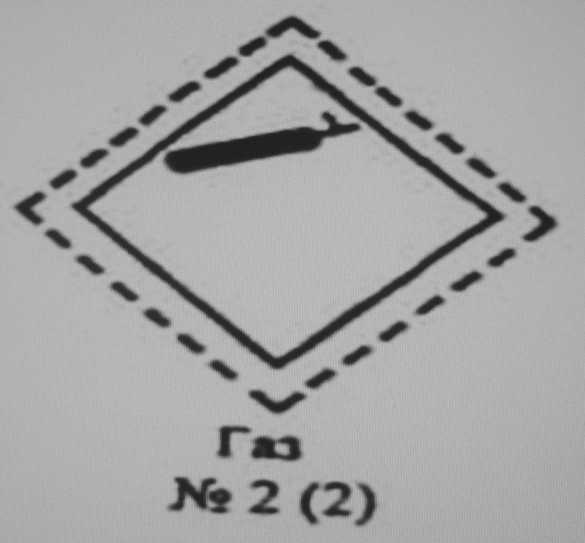
ССД - средняя смертельная доза;

КВИО - коэффициент возможности ингаляционного отравления – отношение максимально достижимой концентрации к ССК при температуре воздуха 20оС.

Маркировка. Для возможности формирования управляющих воздействий, единого подхода к оценке транспортной опасности и определения мер безопасности установлена соответствующая маркировка тары, контейнеров и вагонов с опасными грузами, порядок оформления перевозочных документов, специальная окраска подвижного состава.

Основным элементом отличительной маркировки тары, контейнеров и вагонов с опасными грузами являются установленные для них знаки опасности.

Их порядковые номера соответствуют номерам классов транспортной опасности, а буквенные индексы - их подклассам (за исключением радиоактивных материалов (РМ), знаки опасности которых характеризуют степень транспортной опасности). Они должны иметь установленный для них фон (цвет). Знак опасности для второго класса транспортной опасности грузов (газы сжатые, сжиженные и растворенные под давлением (СГ)), к которому относится хлор, имеет зеленый цвет (рис.10). Символы и надписи на знаках опасности наносятся черным цветом.



**Рис. 10 Знак транспортной опасности для газов сжатых, сжиженных и растворенных под давлением (СГ)**

Кроме знаков опасности, составными элементами маркировки тары и транспортных средств при перевозке ОГ являются:

* транспортное наименование ОГ(хлор);
* номер ООН (четырехзначный), установленный Комитетом Органиации Объединенных Наций по перевозке опасных грузов, а для ВМ - его условный (трехзначный) номер (для хлора – 1017);
* классификационный шифр - численный код опасного груза (для хлора – 2243);

- номер аварийной карточки (трехзначный, первая цифра которого указывает на класс ОГ) (для хлора – 203).

На знаках опасности в верхнем треугольнике наносится символ опасности, а в нижнем - номер подкласса. Между символом и номером подкласса на знаках опасности, наносимых на транспортную тару, располагают надпись, характеризующую опасность груза, а под ней в прямоугольнике на белом фоне - номер аварийной карточки. На знаках опасности, наносимых на вагоны и контейнеры, надпись опасности груза не наносится.

Для повышения контрастности знака опасности на его крае располагается очерченная черной линией полоса белого или другого цвета, не совпадающего с цветом знака и тары. Если груз обладает несколькими видами опасности, на тару и на транспортное средство наносятся все знаки, соответствующие основным и дополнительным видам опасности. В этом случае все необходимые данные указываются только на знаке опасности того класса или подкласса, к которому отнесен груз.

Под знаком опасности на таре и упаковке в прямоугольнике с черной рамкой на оранжевом фоне указывается номер ООН, транспортное наименование и классификационный шифр опасного груза. На вагонах и контейнерах в оранжевом прямоугольнике наносится только номер ООН (рис.11).

1017

**Рис.11 Номер ООН на вагонах-цистернах**

Ярлыки маркировки на каждом грузовом месте располагают:

* на транспортных пакетах, ящиках или деревянных обрешетках - на трех поверхностях (боковой, торцевой и верхней);
* на кипах и тюках - на торцевой и боковой поверхностях;
* на бочках - на верхнем днище и обечайке (боковой поверхности);
* на баллонах, крупногабаритных бидонах и других видах тары - на боковой поверхности или в других наиболее удобных местах, хорошо видимых с дверного проема обслуживающему персоналу, а при возникновении аварийных ситуаций - работникам аварийно-спасательных служб.

Ярлыки маркировки опасности на транспортных средствах располагают:

* на крытых вагонах - в центре двери с обеих сторон вагона;
* на вагонах-цистернах - в правой нижней части котла между днищем и хомутом, с обеих сторон цистерн(для хлора);
* на специализированных контейнерах и контейнерах-цистернах -с четырех боковых сторон и сверху;
* на универсальных контейнерах - то же, рядом с номерами контейнеров.

Нанесение маркировки на грузовые места и транспортные средства вменяется в обязанность отправителю. После выгрузки ОГ и очистки транспортных средств знаки опасности, за исключением стационарно установленных, должны быть грузополучателем сняты или закрыты.

Цистерны для перевозки опасных грузов имеют отличительную окраску котла и цветную горизонтальную полосу по средней части всей длины котла шириной:

* для СГ (2 класс) - 300 мм(для хлора);
* для других классов - 500 мм, кроме бензина и нефтепродуктов, кальцинированной соды, для перевозки которых цистерны не имеют полос.

Котлы цистерн для грузов 2 класса (СГ) (для хлора) окрашиваются в светлосерый (серебристый) цвет. Цвет полосы зависит от вида груза: для хлора – защитный.

На всех цистернах, предназначенных для перевозки одного вида опасного груза, наносится его наименование.

Цистерны, принадлежащие предприятиям, имеют торцевые днища и рамы, окрашенные в зеленый цвет. У края днища по кругу наносится белая полоса шириной 300 мм.

Маркировка цистерн приведена на рис.12.

**Рис.12 Маркировка цистерн**

Установленная маркировка тары, вагонов, контейнеров, отличительная окраска котлов цистерн позволяют адекватно реагировать на транспортную опасность при перевозке опасных грузов грузоотправителям, грузополучателям и работникам железных дорог, а также сотрудникам территориальных подсистем единой государственной системы предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций (РСЧС). [35]

**7.3 Требования безопасности при транспортировке хлора железнодорожным транспортом**

# 1. Транспортировка хлора железнодорожным транспортом регламентируется требованиями действующих нормативных документов на перевозку опасных грузов железнодорожным транспортом и Правилами безопасности при производстве, хранении, транспортировании и применении хлора.

2. Транспортировка хлора должна осуществляться по возможности в обход крупных населенных пунктов и кратчайшим маршрутом с минимальным числом остановок и задержек в пути следования.

Максимальное расстояние транспортировки хлора по железной дороге не должно превышать трех тысяч километров.

3. Хлор перевозят в специально предназначенных железнодорожных вагонах-цистернах, контейнерах и баллонах в сжиженном состоянии.

Организация, осуществляющая транспортировку, должна разработать и утвердить схему погрузки и крепления в соответствии с правилами безопасности при транспортировании опасных грузов, утвержденными в установленном порядке. [39]

4. Организация предъявляет к перевозке исправные вагоны-цистерны, контейнеры и баллоны с жидким хлором с заглушками на арматуре и защитными колпаками. [40]

Транспортировка жидкого хлора в неисправных вагонах-цистернах, контейнерах, баллонах для перевозки жидкого хлора, а также с просроченными сроками эксплуатации, технических освидетельствований, плановых ремонтов не допускается.

Норма наполнения тары, а также остаточное давление в порожней таре должны соответствовать требованиям Правил безопасности при производстве, хранении, транспортировании и применении хлора.

5. При перевозке жидкого хлора железнодорожным транспортом необходимо руководствоваться правилами перевозок опасных грузов по железным дорогам, утвержденными в установленном порядке, порядком ликвидации аварийных ситуаций с опасными грузами при перевозке их пo железным дорогам и Правилами безопасности при производстве, хранении, транспортировании и применении хлора.

6. Вагоны-цистерны, загруженные жидким хлором, перевозятся в сопровождении представителей грузоотправителя или грузополучателя, аттестованных в соответствии с установленными требованиями.[39]

7. Сопровождение наполненных вагонов-цистерн осуществляется с использованием вагонов сопровождения, оснащенных необходимыми в соответствии с табелем оснащения средствами защиты, инструментами и принадлежностями.[40]

8. На каждую отправку жидкого хлора железнодорожным транспортом грузоотправитель должен представить станции отправления накладную с указанием наименования груза, например: «Баллоны с жидким хлором», «Контейнеры с жидким хлором», «Цистерна с жидким хлором». В верхней части накладной должны быть проставлены штемпеля красного цвета («Сжиженный газ», «Ядовито», «Не спускать с горки»), а под наименованием груза - номер аварийной карточки (например: «Аварийная карточка №203»).

9. К сопроводительным документам организация, осуществляющая транспортировку, прикладывает перечень организаций по маршруту следования вагонов-цистерн или вагонов с жидким хлором, на которых имеются аварийные службы для ликвидации возможных утечек хлора. В перечне должны быть указаны места дислокации и телефоны диспетчерских служб этих подразделений, а также телефоны диспетчерских служб организации-грузоотправителя и организации-грузополучателя.

10. Производить маневры толчками и спускать с горки вагоны-цистерны с жидким хлором запрещается. Указанный подвижной состав может быть пропущен через горку только с маневровым локомотивом.

11. Вагоны-цистерны с жидким хлором при стоянке на станции вне поездов или сформированных составов устанавливаются на особых путях, указанных в техническо-распорядительном акте станции. Они должны быть сцеплены, надежно закреплены тормозными башмаками и ограждены переносными сигналами остановки. Стрелки, ведущие на пути стоянки таких вагонов, устанавливаются в положение, исключающее возможность заезда на эти пути других подвижных составов, и запираются.[39]

12. О всех предстоящих маневровых передвижениях составитель поездов предупреждает представителя организации, сопровождающего вагон-цистерну с жидким хлором.[40]

13. При возникновении аварийных ситуаций на железной дороге в пути следования груза с хлором порядок действия железнодорожных служб, представителей организаций и других специалистов определяется правилами безопасности и порядком ликвидации аварийных ситуаций с опасными грузами при перевозке их по железным дорогам, утвержденными в установленном порядке, и Правилами безопасности при производстве, хранении, транспортировании и применении хлора.

14. При сопровождении груза с хлором представителями организаций первоочередные меры по ликвидации аварийной ситуации с хлором проводятся с учетом их рекомендаций.[39]

**7.4 Порядок необходимых действий по ликвидации аварийной ситуации с опасным грузом – хлором**

Общие понятия об аварийной ситуации с опасными грузами, инциденте и аварии. *Аварийная ситуация с опасными грузами* (АС с ОГ) - аварийная ситуация при условиях, отличных от условий нормальной перевозки грузов, связанных с загоранием, утечкой, просыпанием опасного груза, повреждением тары или подвижного состава с опасным грузом, которые могут привести или привели к взрыву, пожару, отравлению, облучению, заболеванию, травмированию, гибели людей и животных, опасным последствиям для окружающей среды.

В свою очередь, АС с ОГ, в зависимости от их последствий, подразделяются на *инциденты* (аварийные происшествия) и *аварии.*

К *авариям* относятсявзрыв и возгорание ОГ в вагоне или его высвобождение из вагона или контейнера с тяжелыми последствиями, которыми являются: гибель и нанесение вреда здоровью людей; проведение эвакуации персонала или населения; причинение ущерба окружающей среде и загрязнение источников водоснабжения; повреждение подвижного состава до степени исключения из эксплуатации (списания).

К *инцидентам (аварийным происшествиям)* относятся*:* сходы и столкновения подвижного состава с ОГ; отцепка вагонов с ОГ от поездов (при их технической или коммерческой неисправности, нарушении правил перевозок ОГ); нахождение в зоне аварии вагонов, контейнеров или грузовых мест с ОГ; возгорание или утечка (просыпание) ОГ из вагона или контейнера без тяжелых последствий. [35]

Необходимые действия при возникновении аварийной ситуации с хлором.

1) Общего характера. Отвести вагон в безопасное место. Изолировать опасную зону в радиусе не менее 200 м. Откорректировать указанное расстояние по результатам химразведки. Удалить посторонних. В опасную зону входить в защитных средствах. Держаться наветренной стороны. Избегать низких мест. Пострадавшим оказать первую помощь. Отправить людей из очага поражение на медобследование.

2) При разливе. Вызвать газоспасательную службу района. Сообщить в ЦСЭН. Прекратить движение поездов и маневровую работу в опасной зоне. Не прикасаться к пролитому веществу. Место разлива обваловать и не допускать попадания вещества в водоемы. Организовать эвакуацию людей с учетом направления движения облака токсичного газа.

3) При пожаре. Не приближаться к емкостям. Охлаждать емкости водой с максимального расстояния (не допускать попадания воды в емкости с хлором). [37]

Поражающие факторы и возможные последствия аварии с хлором. Возможная аварийная ситуация на станции Пискаревка - при расформировании состава из вагонов-цистерн с хлором произойдет разгерметизация цистерны.

Поражающими факторами будут первичное и вторичное облака (т.к. хранение хлора производится в виде сжиженного газа).

Первичное облако – образуется при мгновенном (в течение 1-3 мин) выбросе части хлора в атмосферу.

Вторичное облако – при проливе хлора из цистерны на подстилающую поверхность и его испарении.

При переносе первичного и вторичного облаков, которые накладываются, происходит выпадение осадков хлора на местность и ее заражение.

При утечке из цистерны сжиженного хлора пролитая жидкость может распространиться на большие площади, заражая значительные территории и вызывая пожары.

Хлор может заразить местность, сооружения, технику, одежду, водоемы, грунтовые воды и способен к заражению незащищенных людей как в момент оседания облака зараженного воздуха, так и после оседания частиц хлора вследствие их испарения с зараженной поверхности, а также при контакте с этими поверхностями. [35]

Средства индивидуальной защиты. Наибольшее распространение для защиты людей от попадания хлора в органы дыхания, на глаза и лицо получили гражданские фильтрующие противогазы ГП – 5 (ГП – 5М), ГП – 7 (ГП – 7В). Также применяются детские противогазы и защитные детские комплекты. При очень высоких концентрациях – изолирующие противогазы. Для химразведки и руководителя работ - ПДУ-3 (в течение 20 минут). Для аварийных бригад - изолирующий противогаз ИП-4М и спецодежда.

Меры первой помощи. Вызвать скорую помощь. Лица, оказывающие первую помощь, должны использовать индивидуальные средства защиты органов дыхания и кожи. Пострадавшему необходимо предоставить свежий воздух, покой, тепло, чистую одежду. Глаза и кожу промывать водой не менее 15 минут. При попадании внутрь – давать пить глотками растительное масло.

Нейтрализация. Для осаждения (рассеивания, изоляции) газа использовать распыленную воду. Место разлива промыть большим количеством воды. Изолировать песком, воздушно- механической пеной. Промытые поверхности подвижного состава, территории обработать щелочным раствором (известковым молоком, раствором кальцинированной соды). [41]

Оповещение. Текст оповещения может быть следующим: «Говорит начальник станции – Радостный Альберт Ефремович. Сегодня в 13.45 на юго-западе станции Пискаревка в результате разгерметизации цистерны с жидким хлором произошел его разлив и испарение в атмосферу. Облако заражения движется в северном направлении по направлению ветра. Для локализации аварийной ситуации и нейтрализации пролитого хлора вызваны аварийные службы. Всем оставаться вне зоны аварии и слушать дальнейшие указания».

**Выводы**

1. Хлор является опасным грузом, т.к. его попадание в атмосферный воздух или на территорию станции Пискаревка может привести к гибели или заболеванию людей, к нанесению вреда окружающей среде. Поэтому необходимо обеспечивать безопасность при обращении с хлором.

2. Транспортировка хлора регламентируется нормативно-правовыми документами (например, ст.3 Федерального закона от 10 января 2003 года №18-ФЗ «Устав железнодорожного транспорта Российской Федерации»; Правилами безопасности при производстве, хранении, транспортировании и применении хлора и др.).

3. При транспортировке хлора железнодорожным транспортом необходимо знать порядок действий по ликвидации аварийной ситуации с опасным грузом хлором.

Если знать и учитывать все вышеперечисленные факторы, то безопасность при транспортировке хлора будет обеспечена и в экстренных случаях (при возникновении аварийной ситуации) авария будет быстро локализована, а хлор - нейтрализован.

**Общие выводы**

1. Почвогрунты полосы отвода загрязняются объектами железнодорожного транспорта. Загрязнение почв нарушает выполняемые почвой функции, поэтому необходимо исследовать ее экологическое состояние.

2. Исследование всего комплекса показателей загрязнения является дорогостоящим и трудоемким мероприятием. Экспериментально доказано, что из всех биохимических показателей ферментативная активность наилучшим образом коррелирует с содержанием в почве загрязнений.

3. Проведено геостатическое исследование закономерностей варьирования биологических свойств почвы в пространстве для решения вопроса о возможности распространения результатов, полученных на небольшом участке, на прилегающие территории.

4. Благодаря проведенному исследованию установлено, что исследуемая территория является однородной по биологическим свойствам.

5. Предлагается изучать состояние почвогрунтов по показателям ферментативной активности на небольшой территории (так как доказана ее однородность), что позволит уменьшить стоимость исследования, затраты времени и трудозатраты.

6. Рассчитана суммарная величина предотвращенного экологического ущерба от разрушения и загрязнения нефтепродуктами почв на рассматриваемой территории.

7. Произведен расчет искусственного освещения рабочего места экологической лаборатории.

8. Охарактеризована транспортная опасность перевозимого по железнодорожным путям опасного груза хлора, изложены требования безопасности при транспортировке хлора железнодорожным транспортом, определен порядок необходимых действий в случае возникновения аварийной ситуации с хлором.

**Список литературы и источников**

1. Маслов Н.Н., Коробов Ю.И. Охрана окружающей среды на железнодорожном транспорте. М.: Транспорт, 1996.-238с.

2. Зубрев Н.И., Шарпова Н.А. Охрана окружающей среды и экологическая безопасность на железнодорожном транспорте. М.: УМК МПС России, 1999.-592с.

3. Розанов Б.Г., Розанов А.Б. Основные тенденции изменения почвенного покрова земли под воздействием человека. М.: МГУ, 1994.-с.105-126.

4. Структурно-функциональная роль почвы в биосфере. М.: Геос, 1999.-278с.

5. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. М.: Мир, 1989.-439с.

6. Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Экологические последствия загрязнения почв тяжелыми металлами. Ростов – на- Дону: СКНЦ ВШ, 2000.-232с.

7. Никитин Е.Д. Почва как биокосная полифункциональная система, разнообразие и взаимосвязь почвенных экофункций. М.: Геос, 1999.-с.74-81.

8. Безуглова О.С., Вальков В.Ф., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Морозов И.В. Влияние высоких концентраций тяжелых металлов на гумусное состояние и биологическую активность чернозема обыкновенного карбонатного. Северо-кавказский регион: Естественные науки, 1999.-с.65-71.

9. Гришина Л.Г., Макаров М.И., Недбаев Н.П., Окунева Р.М., Костенко А.В. Изменение свойств почв в условиях промышленного загрязнения. М,: МГУ, 1990.-с.22-64.

10. Евдокимова Г.А., Мозгова Н.П. Влияние промышленного загрязнения на микрофлору почв. Пущино, 1995.-с.109-111.

11. Вальков В.Ф., Колесников С.И., Казеев К.Ш. Влияние загрязнения тяжелыми металлами на фитотоксичность чернозема. Агрохимия, 1997.-с.50-55.

12. Добровольский Г.В., Никитин Е.Д. Экологические функции почвы. М.: МГУ, 1986.-137с.

13. Яковлев А.С Биологическая диагностика и мониторинг состояния почв.-М.: Почвоведение, 2000.-с.70-79.

14. Звягинцев Д.Г., Кураков А.В., Умаров М.М., Филипп З. Микробиологические и биохимические показатели загрязнения свинцом дерново-подзолистой почвы. М.: Почвоведение, 1997.-с.462-478.

15. Экология и охрана природы. Словарь-справочник. М., 2005.-501с.

16. Вальков В.Ф., Елисеева Н.В. Справочник по оценке почв. ГУРИПП «Адынея», 2004.-234 с.

17. Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Биоэкологические принципы мониторинга и нормирования загрязнения почв. Ростов-на-Дону, 2001.-64с.

18. Горленко М.В. Функциональное биоразнообразие почвенных микроорганизмов: подходы к оценке. М., 2001.-с.228-234.

19. Муравьев А.Г., Каррыев Б.Б., Ляндзберг А.Р. Оценка экологического состояния почвы. СПб.,2000.-164с.

20. Павлюкова Н.Ф., Долгова Л.Г. Индикация эдаротопов, загрязненных техногенными веществами, по активности ферментов. М., 1993.-с.45-47.

21. Гришина Л.А. Влияние атмосферного загрязнения на свойства почв. М.: МГУ, 1990.-191с.

22. Киреева Н.А., Новоселова Е.И., Хазиев Ф.Х. Фосфогидролазная активность нефтезагрязненных почв. М., 1997.-с.723-725.

23. http://www.vestnik.vsu.ru/pdf/chembio/2006/02/023\_rus.pdf

24. Кудряшова С.Я. Контролируемые показатели почвенно-экологического мониторинга. М., 1995.-122с.

25. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М., 2005 г.-252с.

26. Хазиев Ф.Х. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв. М.,1992.-143с.

27. Казеев К.Ш., Колесников С.И. Биологическая диагностика почв. Биохимические методы. Ростов-на-Дону: РГУ УПЛ, 1998.-19с.

28. Джогман Р.Г.Г., Тер Браак С.Дж.Ф., Ван Торгерен О.Ф.Р. Анализ данных в экологии сообществ и ландшафтов. М.: РАСХН, 1999.-306с.

29. Свинцов Е.С., Суровцева О.Б., Тишкина М.В. Экологическое обоснование проектных решений. М.: Маршрут, 2006.-302с.

30. Неверова О.А., Еремеева Н.И. Опыт использования биоиндикаторов в оценке загрязнения окружающей среды. М.,2006.-230с.

31. Макарова О.Ю. Определение величины предотвращенного ущерба. Санкт - Петербург, 2005.-20с.

32. Белова С.В. Безопасность жизнедеятельности. М.: Высшая школа, 2007.-616с.

33. Бадаев А.С. Проектирование средств защиты от опасных и вредных производственных факторов. Часть 1.С-Пб, 1995.-125с.

34. РД 32.15-91. Нормы искусственного освещения объектов железнодорожного транспорта (взамен ОСТ 32.9-81).М, 1992.-21с.

35. Махонько П.Ф., Подшивалов В.М., Шейнин И.И. Предупреждение и ликвидация последствий чрезвычайных ситуаций на железнодорожном транспорте. Часть 1. С-Пб: ПГУПС,2003.-186с.

36. http://www.krugosvet.ru/articles/112/1011242/1011242a2.htm

37. http://rail.ctm.ru/getdoc.php?name=PB\_PR\_2D#203

38. http://n-t.ru/ri/ps/pb017.htm

39. http://www.rostehnadzor.ru/doc/rule7\_8.doc

40. Правила перевозок грузов железнодорожным транспортом. Сборник-книга1. М.: Юртранс, 2003.-712с.

41. http://www.brestrw.by/danger/cart.php?num=203

1. «Эффект самородка» – случайная вариация переменной на самом коротком расстоянии между точками. «Эффект самородка» обусло6влен влиянием ошибок измерений и всех источников неучтенной вариации. [↑](#footnote-ref-1)