
**ХИМИЧЕСКАЯ ФИЗИКА
ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

УДК 504.064

**ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТЕРРИТОРИЙ,
ПОДВЕРЖЕННЫХ РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ.
II. ЭФФЕКТЫ ТОКСИЧНОСТИ ПРИРОДНЫХ ВОД (*IN VITRO*)**

© 2020 г. Е. В. Штамм^{1*}, Ю. И. Скурлатов¹, А. В. Рошин¹,
В. О. Швыдкий², Л. В. Семеняк³, И. В. Семёнова⁴

¹Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова
Российской академии наук, Москва, Россия

²Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия

³Всероссийский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия

⁴Институт проблем мониторинга окружающей среды ФГБУ “НПО “Тайфун” Росгидромета, Обнинск, Россия

*E-mail: Ekochem@yandex.ru

Поступила в редакцию 08.05.2019;
после доработки 14.06.2019;
принята в печать 20.06.2019

Изучены токсические свойства нативных проб воды поверхностных (речных) и подземных вод, используемых для питьевого водоснабжения населенных пунктов, на территории Жиздринского и Ульяновского районов Калужской области, в наибольшей степени подвергшихся радиационному воздействию после аварии на Чернобыльской АЭС в 1986 году. Основное внимание уделено проявлению генотоксических эффектов, как наиболее характерных при радиационном загрязнении территории. Показано, что в большинстве проанализированных проб вода проявляет достоверный цитогенетический эффект в отношении клеток перевиваемых культур китайского хомячка (клоны СНО и 237). При этом содержащиеся в анализируемых пробах воды экстрагируемые эфирорастворимые органические вещества проявляют генотоксическую активность лишь при их 100-кратном концентрировании. Параллельно проведен анализ мутагенной токсичности проб воды с использованием теста Эймса. Без метаболической активации (в отсутствие добавок S9-фракции печени крыс) большинство проб воды из источников питьевого водоснабжения обладали острой токсичностью в отношении штаммов сальмонеллы (ТА 97, ТА 98, ТА 100). Результаты биотестирования обсуждаются в свете полученных ранее данных по радиационному воздействию чернобыльской аварии на водную среду днепровских водохранилищ. Сделан вывод о том, что в проявлении генотоксических свойств основную роль могут играть “скрытые” от традиционных методов радиационного контроля радиоизотопы — источники альфа- и бета-излучения, которые при наличии загрязнения среды переходными металлами приводят к образованию ионов металлов в сверхокисленном состоянии, в частности к образованию микроколлоидальных частиц смешанно-валентного марганца Mn(III,IV), являющихся своего рода “носителями” ОН-радикала. Методами биотестирования с использованием тест-организмов различного трофического уровня (бактерии, инфузории, дафнии) установлена острая и хроническая токсичность анализируемых образцов речных и подземных вод. Ни по одному из традиционно контролируемых гидрохимических показателей качества воды корреляции с токсичностью не обнаружено.

Ключевые слова: водные объекты, биотестирование, генотоксичность, клеточная тест-культура, хромосомные aberrации, тест Эймса, радионуклиды, ОН-радикалы.

DOI: 10.31857/S0207401X20020120

ВВЕДЕНИЕ

Ранее [1] нами были проанализированы результаты анализа химического загрязнения объектов окружающей среды Жиздринского и Ульяновского районов Калужской области, которые оказались в числе наиболее пострадавших в результате аварии на ЧАЭС в 1986 году. В населенных пунктах этих районов было проведено два

цикла натурных исследований — в осеннюю межень и в весеннее половодье.

Параллельно с химическими анализами в ходе полевых исследований был проведен анализ токсических характеристик отобранных проб воды водных объектов и почвенных вытяжек, результаты которого и являются предметом данной статьи. Особое внимание было уделено проявлению

генотоксических эффектов, как наиболее характерных при радиационном загрязнении территории.

Для получения объективной оценки мутагенной и канцерогенной опасности загрязнения окружающей среды токсикологические исследования проведены с учетом рекомендаций ВОЗ [2], включая обязательное использование батареи тестов для первичного скрининга: тест Эймса на индукцию мутаций у бактерий и исследование хромосомных нарушений в перевиваемых культурах клеток млекопитающих в краткосрочном тесте (*in vitro*). Для получения более значимой доказательной базы результатов тестирования, наряду с цитогенетическими, использовали также и другие (традиционные) методы биотестирования.

Цель данной работы — выявление наиболее значимых токсикологических последствий сочетанного действия факторов химического и радиационного загрязнения территорий.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Токсикологические исследования на мутагенную активность проб воды были проведены двумя независимыми группами специалистов из Медицинского радиологического научного центра РАМН и НПО «Тайфун». Статистический анализ показал удовлетворительную сходимость для 95%-ной доверительной вероятности результатов определения мутагенной активности одних и тех же нативных проб подземных и поверхностных вод, полученных разными группами специалистов при использовании нескольких тест-объектов, включая перевиваемую клеточную тест-культуру китайского хомячка ((КХ), клоны 237 и СНО).

Для сравнительного анализа чувствительности и информативности метода определения мутагенной активности проб воды в качестве базового использовали тест Эймса (сальмонелла/микросомы) [3]. Процедура тестирования генотоксичности с помощью клеточной культуры млекопитающих (китайский хомячок) и мутагенной активности в бактериальном тесте Эймса осуществлялась сразу же после доставки проб в лабораторию. Длительность периода между отбором проб воды и их анализом на мутагенную активность составляла от 10 до 20 ч. Методы определения мутагенной активности проб воды с использованием в качестве тест-объекта культуры клеток КХ подробно изложены в работах [4, 5]. Соблюдались единые условия тестирования: выдерживание тест-объекта в тестируемой среде в течение 2 ч с последующей фиксацией эффекта воздействия через 10 ч [6]. В качестве контрольных растворов использовали физиологический раствор и питательную среду.

Для определения мутагенной активности содержащихся в водной среде органических веществ последние экстрагировали смесью раство-

рителей гексана и диэтилового эфира в соотношении 1 : 1. Полученные сухие остатки хранили в холодильнике.

Непосредственно перед опытами экстракты растворяли в 1 см³ метанола (СН₃ОН) на водяной бане при температуре 50 °С в течение 10 мин. Затем компенсировали испарившийся метанол, доводя конечный объем метанольного раствора до 1 см³. Для последующего тестирования из этого раствора микродозатором отбирали две аликвоты объемом 0.050 см³. В качестве тест-объекта использовали клетки КХ линии 237. В тестируемой среде подготовленную клеточную культуру экспонировали в течение 2 ч с последующей фиксацией через 14 ч, учитывая возможную задержку деления клеток. Для получения достоверного эффекта использовали четыре контрольных раствора: питательную среду Игла, физиологический раствор (ФР) без добавок и с добавками 0.05 см³ метилового спирта или 0.08 см³ метаболической смеси на 5 см³ общего объема тестируемой смеси.

Из традиционных методов биотестирования (*in vitro*), которые в настоящее время широко применяются на практике при оценке токсичности сточных вод, в работе использовались:

— изменение интенсивности биолюминесценции светящихся бактерий *Benekea harvei* под воздействием токсических веществ, присутствующих в анализируемой пробе по сравнению с контролем. Количественная оценка параметра тест-реакции выражается в виде индекса токсичности T , равного процентному отношению $100(I_0 - I)/I_0$, где I_0 и I — интенсивность биолюминесценции бактерий в контроле и в опыте соответственно. Токсическое действие исследуемой пробы определяется за 5-минутный (экспрессный вариант) и/или 30-минутный периоды экспозиции. Значение $T < 20\%$ считается допустимым (анализируемая проба нетоксична), $T \geq 20\%$ — образец токсичен, при $T \geq 50\%$ — сильно токсичен. При активации процессов, сопровождающихся биолюминесценцией бактерий, индекс T является отрицательной величиной. Считается, что анализируемая проба токсична и при индукции свечения, т.е. при абсолютных значениях $T \geq 10\%$ [7], однако в этом случае рекомендуется подтвердить токсичность пробы другими методами биотестирования;

— прирост клеток инфузорий *Tetrahymena pyriformis* через 24 ч после начала инкубации. Вывод о наличии или отсутствии токсичности пробы воды делается на основании достоверного отличия коэффициента прироста инфузорий, $K_{T,p}$, в опыте по сравнению с контролем. Критерий достоверности (t_d) сравнивают со значением критерия Стьюдента (t_{st}), который для нашего случая (трех параллельных определений) был равен 2.78. Если

Таблица 1. Генотоксичность проб воды, отобранных из речных вод Жиздринского района (весна 2000 г.), и контрольных растворов

Место отбора пробы воды	Изучено клеток	Число клеток с абберациями, %	Число хромосомных аббераций на 100 клеток		
			фрагментов	обменов	всего
Река Рессета	100	4.0 ± 2.0	3.0	6.0	9.0 ± 4.9
Река Жиздра	100	7.0 ± 2.6	4.0	4.0	8.0 ± 3.1
Физиологический раствор	100	0.0	0.0	0.0	0.0
Среда культивирования	100	0.0	0.0	0.0	0.0

Примечание: обмены хромосомного типа — дицентрические и кольцевые хромосомы, образующиеся в результате неправильного воссоединения двунитевых разрывов ДНК, возникающих на стадии G0-G1 клеточного цикла в метафазах. Нерепарированные двунитевые разрывы ДНК приводят к делениям хромосом и формированию ацентрических хромосомных фрагментов, не содержащих центромеры. Дицентрики, кольца и ацентрические фрагменты со временем исчезают, относятся к нестабильным хромосомным перестройкам. К обменным абберациям хромосомного типа относятся и транслокации, не приводящие к потере генетического материала при передаче дочерним клеткам в митозе, классифицируются как стабильные абберации. Появление двунитевого разрыва ДНК в участке хромосомы, уже прошедшем удвоение в процессе репликации в S-фазе клеточного цикла, может привести к образованию аббераций хроматидного типа, наиболее типичными из которых являются обменные абберации, возникающие в процессе неправильного соединения двух двунитевых разрывов ДНК, находящихся на хроматидах разных хромосом, и хроматидные фрагменты.

$t_d \geq t_{st}$, то анализируемая проба считается токсичной [8];

— количество выметанной молоди в трех поколениях рачков *Ceriodaphnia dubia* (хроническая токсичность, $K_{C,d}$) [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Методы биотестирования *in vitro*, в том числе с использованием клеточных культур млекопитающих и бактериальной тест-системы Эймса, служат интегральным индикатором токсического воздействия на живые организмы всей совокупности содержащихся в анализируемом образце воды загрязняющих веществ или скрытых факторов токсического воздействия (например, нерегистрируемых токсикантов или радионуклидов). С применением методов биотестирования можно не только оценить токсикологическую опасность водной среды, но и выявить источник (причину) возникновения токсичности, а также выбрать наиболее эффективные способы защиты водных экосистем от негативных антропогенных воздействий [10–12] с использованием, в частности, математических методов на основе современных программ моделирования химических и биологических процессов в окружающей среде в рамках кинетического подхода [13, 14].

В табл. 1 представлены результаты анализа генотоксичности проб речных вод Жиздринского района. Из приведенных данных следует, что генотоксичность нативных проб поверхностных вод достоверно выше контрольного уровня.

Результаты анализа генотоксичности подземных вод, отобранных в населенных пунктах Жиздринского и Ульяновского районов, представлены в табл. 2, 3. Из представленных данных следует, что

достоверный цитогенетический эффект обнаружен при воздействии на клетки КХ клона СНО нативных проб воды, отобранных из питьевых источников в поселках Кцынь, Ульяново, Судимир, Жиздра, Мужитино.

В табл. 4 приведены данные по генотоксичности почвенных вытяжек и органических экстрактов из проб почв. Видно, что метод *in vitro*, основанный на анализе частоты индуцированных аббераций хромосом в клетках КХ, позволяет оценивать мутагенную активность вытяжек без их дополнительной обработки.

Результаты проведенных цитотоксикологических исследований с использованием тестов *in vitro* объективно отражают потенциальную мутагенную опасность состояния окружающей среды в районах, подверженных сочетанному действию факторов радиационного и химического загрязнения местности.

Сравнительные результаты биотестирования мутагенной активности одних и тех же проб воды с использованием теста Эймса и теста по числу аббераций в клетках КХ приведены в табл. 5. В тесте Эймса, наряду со штаммами сальмонеллы ТА 98 и ТА 100 [5], был использован штамм ТА 97 (мутация *hisD6610*), который является более чувствительным к мутагенному воздействию агентов, индуцирующих мутации типа сдвига рамки считывания по сравнению с мутацией *hisD3052* штамма ТА 98 [15]. В настоящее время штаммы ТА 97, ТА 98 и ТА 100 наиболее часто используются в России в системе контроля природных и сточных вод на мутагенную активность.

Из данных, приведенных в табл. 5, следует, что большинство проб воды из источников питьевого водоснабжения обладали острой токсичностью (гибель) по отношению ко всем трем штаммам

Таблица 2. Генотоксичность подземных вод, отобранных в населенных пунктах Жиздринского района (весна 2000 г.)

Место отбора пробы воды	Изучено клеток	Число клеток с абберациями, %	Число хромосомных аббераций на 100 клеток		
			фрагментов	обменов	всего
Мужитино	100	2.0 ± 1.4	0.0	2.0	2.0 ± 1.4
	200	2.5 ± 1.1	0.0	2.5	2.5 ± 1.1
Судимир	100	2.0 ± 1.4	0.0	2.0	2.0 ± 1.4
	100	3.0 ± 1.7	1.0	2.0	3.0 ± 1.7
Жиздра	100	5.0 ± 2.2	1.0	4.0	5.0 ± 2.2
Зикеево	100	1.0 ± 1.0	1.0	0.0	1.0 ± 1.0
	200	2.0 ± 1.0	0.0	2.0	2.0 ± 1.0

Таблица 3. Генотоксичность подземных вод, отобранных в населенных пунктах Ульяновского района (весна 2000 г.) в отношении клеток КХ клона СНО

Место отбора пробы воды	Изучено клеток	Число клеток с абберациями, %	Число хромосомных аббераций на 100 клеток		
			фрагментов	обменов	всего
Ульяново	100	3.0 ± 1.7	1.0	4.0	5.0 ± 3.0
Дудоровский	100	2.0 ± 1.4	3.0	1.0	4.0 ± 3.2
Кцынь	100	5.0 ± 2.2	5.0	0.0	5.0 ± 2.2
	200	2.5 ± 1.1	0.0	2.5	2.5 ± 1.1
Заречье	200	2.0 ± 1.0	0.0	2.0	2.0 ± 1.0

Таблица 4. Результаты тестирования мутагенной активности (МА) почв с помощью метода (*in vitro*) по частоте индуцированных аббераций хромосом в клетках КХ

Место отбора пробы	Тест-объект, тестируемая среда (кратность разбавления)	Изучено число клеток	Клеток с абберациями, %	Хромосомные абберации на 100 клеток			Коэффициент K_{MA}
				фрагменты	обмены	всего	
Судимир, поле	КХ, клон 237, солевая вытяжка	200	7	5	3	8.5	1.8
Мужитино, огород	КХ, клон СНО, органический экстракт (1 : 50)	200	3	1	1.5	3.5	0.17
Зикеево, поле	КХ, клон 237, солевая вытяжка	200	8.5	4.5	6.5	11	2.7
Волосово—Дудино, огород	КХ, клон СНО, органический экстракт (1 : 50)	200	4	2	1.5	4.5	0.5
Холостая проба	КХ, клон СНО, органический экстракт (1 : 50)	300	3.3	1	2.3	3.3	0.1
Среда Игла		200	1	1	0	1	
Физиологический раствор		200	2		2.5	3	

Таблица 5. Сравнительные результаты определения мутагенной активности поверхностных и подземных вод с использованием теста Эймса (без добавок и с добавкой S9-фракции) и частоты хромосомных aberrаций в клетках КХ (отбор проб весной 2000 г.)

Пункт отбора пробы воды	Тест Эймса (сальмонелла/микросомы)						Тест по числу аберраций в клетках КХ	
	ТА 97		ТА 98		ТА 100			
	$K_{\text{ТА } 97}$ (-S9)	$K_{\text{ТА } 97}$ (+S9)	$K_{\text{ТА } 98}$ (-S9)	$K_{\text{ТА } 98}$ (+S9)	$K_{\text{ТА } 100}$ (-S9)	$K_{\text{ТА } 100}$ (+S9)	МА *	$K_{\text{МА}}$
Ульяновский район								
Ульяново	5.48	1.67	10.1	2.32	2.8	1.9	3.3 ± 1.2	1.9
Заречье	гибель	1.34	гибель	1.22	гибель	0.96	3.3 ± 1.0	1.9
Дудоровский	гибель	1.11	гибель	1.08	гибель	1.22	2.5 ± 1.1	1.5
Кцынь	гибель	1.75	4.1	1.21	гибель	0.92	4.7 ± 1.8	2.7
Жиздринский район								
Судимир	гибель	1.02	0.79	1.32	гибель	0.96	3.6 ± 1.5	2.1
Жиздра	гибель	1.0	гибель	1.5	гибель	0.88	2.1 ± 1.3	1.2
Зикеево	гибель	0.81	гибель	1.36	гибель	1.2	2.3 ± 1.3	1.3
Мужитино	гибель	0.86	гибель	1.2	гибель	0.84	2.1 ± 0.9	1.2
Река Жиздра	гибель	0.88	5.69	1.06	1.0	0.98	7.0 ± 1.9	4.1
Река Рессета	7.69	1.17	10.8	1.85	1.0	1.34	7.3 ± 2.2	4.3

Примечание: МА* – число хромосомных aberrаций на 100 клеток; K_{ТА 97}, K_{ТА 98}, K_{ТА 100}, K_{МА} – коэффициенты кратности превышения над контрольным уровнем.

сальмонеллы, что свидетельствует о наличии в этих пробах факторов токсичности в отношении сальмонеллы. Не исключено, что токсичность может быть связана с присутствием в анализируемых пробах воды микроколлоидальных частиц смешанно-валентного марганца Mn(III,IV) [1]. Эффект острой токсичности по отношению к сальмонелле исчезал при добавке системы метаболической активации, что может быть связано с детоксикацией Mn(III,IV) компонентами S9-фракции печени крыс, используемой в системе метаболической активации теста Эймса. В пробах воды, отобранных в реках Жиздра и Рессета, наблюдался эффект мутагенной активности, качественно коррелирующий с повышенным числом хромосомных aberrаций в клетках КХ в тех же пробах.

Как правило, при оценке потенциальной токсичности природных вод основное внимание уделяется содержанию малорастворимых в воде веществ, извлекаемых из воды с помощью органических растворителей. Для оценки вклада таких веществ в генотоксичность нативных проб воды нами была изучена токсичность содержащихся в пробах воды эфирорастворимых веществ (ЭРВ).

Результаты тестирования органических экстрактов представлены в табл. 6. Видно, что содержащиеся в анализируемых пробах воды ЭРВ, будучи сконцентрированными в процессе экстракции в 100 раз, проявляют заметную мутагенную активность и без дополнительной активации. До-

бавки в тестируемые водные растворы системы метаболической активации на основе S9-фракции привели к возрастанию числа индуцированных aberrаций хромосом в клеточной тест-культуре КХ. Это свидетельствует о том, что в изученных пробах питьевой воды содержится значительное количество проканцерогенных малорастворимых в воде органических веществ. При этом мутагенная активность органического экстракта в относительных единицах проявилась в наиболее выраженном виде в пробе питьевой воды, отобранной из колодца в поселке Зикеево Жиздринского района.

Результаты тестирования проб поверхностных и подземных вод с применением традиционных методов биотестирования приведены в табл. 7. В пробах речных вод (Жиздра и Рессета) токсический эффект по изменению активности люциферы светящихся бактерий наблюдается как при воздействии на клеточную мембрану (5 мин), так и при включении в клеточный метаболизм (30 мин). В отношении репродуктивной функции цериодафний по количеству выметанной молоди в трех поколениях отмечена хроническая токсичность. Пробы воды из подземных источников, отобранных с разных водоносных горизонтов, вызывают гибель обоих видов дафний. На ростовую функцию инфузорий (коэффициент прироста клеток в опыте по отношению к контролю через 24 ч после начала инкубации) оказали токсическое влияние

Таблица 6. Генотоксичность органических экстрактов проб питьевой воды по влиянию на индукцию aberrаций хромосом в клетках КХ клона 237

Место отбора пробы	$C_{орг}$, мг/дм ³	Условия опыта	Изучено число клеток	Клеток с aberrациями, %	Число хроматидных aberrаций на 100 клеток		
					фрагменты	обмены	всего
Судимир, колонка	2.05	(–S9)	200	5	0.5	7.5	8
Коллективизатор, колодец	1.63	(–S9)	200	7.5	7.5	1.5	9
		(+S9)	100	19	12	14	26
Мужитино, колодец	1.07	(–S9)	200	4.5	6	2	8
		(+S9)	100	16	13	10	23
Зикеево, колодец	0.80	(–S9)	200	4	2	5	7
		(+S9)	200	22.5	10	28.5	38.5
Среда Игла		(–S9)	200	0.5	0.5	0	0.5
CH ₃ OH		(–S9)	200	2	1.5	0.5	2
Физиологический раствор		(–S9)	200	0	0	0	0
		(+S9)	100	1	1	0	1

Таблица 7. Острая и хроническая токсичность проб воды, отобранных в населенных пунктах Ульяновского и Жиздринского районов Калужской области (май 2000 г.)

Пункт отбора пробы	Время выдерживания бактерий <i>Benekea harvei</i> в среде, мин		Инфузории <i>Tetrahymena pyriformis</i> , $K_{T,p}$	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	
	5	30		острая, %	хроническая, $K_{C,d}$
Контроль	—	—	1.0, $t_{st} = 2.78$	100	1.0
Ульяново	19.3	4.6	1.2, $t_d = 1.25$	0	—
Заречье	12.9	–1.1	2.1, $t_d = 2.74$	0	—
Дудоровский	19.6	8.21	1.5, $t_d = 2.89$	0	—
Кцынь	53.6	40.0	1.4, $t_d = 3.48$	0	—
Судимир	–132.3	–113.9	1.2, $t_d = 0.14$	0	—
Жиздра	22.9	9.2	0	—	0.3
Зикеево	64.7	50.0	1.3, $t_d = 2.1$	0	—
Мужитино	37.5	21.7	1.0, $t_d = 0.03$	0	—
Река Жиздра	39.1	24.6	1.6, $t_d = 2.55$	—	1.3
Река Рессета	–24.5	–105.4	1.5, $t_d = 2.37$	—	2.2

Примечание: $K_{T,p}$, $K_{C,d}$ — кратность превышения величины определяемого показателя в процедуре биотестирования над контрольным уровнем; t_{st} — табличное значение критерия Стьюдента для значений $K_{T,p}$, при 95%-ном доверительном интервале. Жирным шрифтом выделены значения достоверно токсичных проб.

пробы питьевой воды из поселков Жиздра, Дудоровский и Кцынь.

При сравнении показателей токсичности со значениями контролируемых гидрохимических показателей [1] обнаруживается лишь качественная корреляция. Так, наблюдаемая в пробе воды поселка Дудоровский токсичность в отношении инфузорий коррелирует с максимальным уровнем радиоактивного загрязнения (6.88 Ки/км²), заметная токсичность пробы вод из колонки по-

селка Жиздра коррелирует с максимальным содержанием в воде ионов железа (3.02 мг/л), а вода из колодца Кцыни, характеризующаяся наибольшим содержанием нитрит-ионов (0.057 мг N/л) при их содержании в других пробах не более 0.007 мг N/л, проявляет токсичность в отношении бактерий и инфузорий.

В отношении светящихся бактерий, помимо пробы воды из колодца Кцыни, токсичными оказались пробы воды, взятые в поселках Судимир,

Зикеево и Мужитино; при этом в пробах воды из колодцев Зикеево и Мужитино вода характеризуется наибольшим содержанием нитрат-ионов (17.3–20.8 мг N/л), а вода поселка Судмир содержит наибольшее количество бенз(а)пирена (9.4 нг/л). Следует отметить, что тест на светящихся бактериях как информативный и наиболее экспрессный инструментальный метод биотестирования успешно внедряется в практику токсикологического контроля питьевых вод в России [16].

Приведенные примеры лишний раз свидетельствуют о том, что методы биотестирования дают более адекватную, интегральную оценку качества водной среды без привязки к отдельным гидрохимическим показателям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты токсикологического обследования речных вод и подземных источников питьевого водоснабжения населенных пунктов Ульяновского и Жиздринского районов Калужской области, в наибольшей степени пострадавших в результате аварии на ЧАЭС, выявили значительную генотоксичность проб воды, качественно коррелирующую с токсичностью, измеряемой традиционными методами биотестирования. В то же время корреляции с уровнем химического загрязнения, характеризуемым “стандартным” набором гидрохимических показателей, не выявлено. Наблюдаемое расхождение в показателях качества, определяемых методами химического контроля, с фактическим уровнем токсического воздействия воды в отношении тест-организмов и модельных тест-систем лишний раз отражает неадекватность действующих систем санитарно-гигиенического и экологического мониторинга водных объектов, основанных исключительно на инструментальных методах контроля относительно узкого набора так называемых “приоритетных” загрязняющих веществ.

Немаловажное значение в формировании токсических свойств водных объектов изученных в данной работе регионов имеет, по нашему убеждению, сочетание химического загрязнения с радиационным воздействием, сохраняющимся в регионе после чернобыльской аварии. Основными долгоживущими радиоизотопами – загрязнителями водной среды днепровских водохранилищ после аварии на ЧАЭС были цезий-137 и стронций-90, характеризующиеся периодом полураспада, равным 28–30 лет. Среди долгоживущих изотопов, выбросы которых также имели место при аварии на ЧАЭС, существенный вклад в загрязнение окружающей среды вносят изотопы плутония, в частности источник альфа-излучения – плутоний-239 с периодом полураспада, равным 24 тысячи лет и источник бета-излучения – плутоний-241 ($T_{1/2} = 14.4$ лет), при распаде которого в районах радиационного загрязнения

со временем происходит накопление другого источника бета-излучения – изотопа амерция-241 с периодом полураспада, равным 433 года. Со временем, в результате радиоактивного распада плутония-241, загрязнение среды изотопом амерция-241 в местах выпадения аэрозольных осадков, содержащих изотопы плутония, будет превалировать значение.

О том, что “скрытое” (неконтролируемое обычными методами радиационного контроля) загрязнение среды изотопами радионуклидов, являющихся источниками альфа- и бета-излучения, может играть существенную роль в формировании токсических свойств природной водной среды, свидетельствуют, в частности, результаты, полученные нами в ходе исследований, проведенных в 1986–1989 годах на Киевском, Каневском, Кременчугском и других днепровских водохранилищах [17]. Выяснилось, что существенного воздействия на гидрохимический режим водохранилищ авария на ЧАЭС не оказала (если не считать дополнительного загрязнения среды аэрозольными выбросами тяжелых металлов, особенно свинца, и в меньшей степени марганца, цинка, меди, хрома). В то же время в первые месяцы после аварии в воде Киевского водохранилища, а в последующие годы – и в других водохранилищах нами была зарегистрирована значительная интенсификация процессов с участием ОН-радикалов. Скорость образования ОН-радикалов в результате радиационного воздействия, измеренная по скорости обесцвечивания красителя *пара*-нитрозодиметиланилина, широко используемого в радиационно-химических измерениях, составляла в толще днепровской воды в среднем $3 \cdot 10^{-11}$ моль/л · с [17]. Скорость процесса образования ОН-радикалов возрастала в присутствии взвеси донных отложений и уменьшалась при центрифугировании образцов воды. Это означает, что ОН-радикалы образуются в водной фазе, но при участии взвешенных частиц, сорбирующих радиоактивные загрязнения.

В отличие от предшествующих годов (1983–1985 гг.), когда в воде Киевского водохранилища на фоне доминирования в альгоценозе сине-зеленых водорослей регистрировались вещества восстановительной природы, эффективно взаимодействующие с пероксидом водорода [18], после аварии во всех обследованных в июне–июле 1986 года точках водохранилища в воде регистрировался пероксид водорода, причем при продвижении по водохранилищу в сторону Припятского отрога концентрация H_2O_2 закономерно увеличивалась (до 10^{-6} моль/л), что свидетельствует о вкладе радиационно-химических процессов в образование не только ОН-радикала, но и H_2O_2 . Появление в воде пероксида водорода привело к утрате сине-зелеными водорослями

доминирующего положения в альгоценозе — биомасса их уменьшилась с 31.2–53.08 до 0.6 г/м³ [17].

Радиационный выход H₂O₂ в пробах воды р. Днепр, измеренный нами с помощью гамма-радиационной установки Института физической химии АН Украины, оказался близким к единице (как и в дистиллированной воде). Зная радиационный выход, усредненную по анализируемому объему воды Киевского водохранилища мощность дозы радиации мы оценили равной порядка 100 рад/ч. В то же время уровень гамма-радиоактивности донных отложений и водной толщи Киевского водохранилища в мае-июне 1986 года не превышал 1 рад/ч. По результатам натурных измерений мы пришли к выводу, что *основной вклад в инициирование ОН-радикалов вносят неконтролируемые (скрытые) источники альфа- и бета-излучения.*

В результате радиационного воздействия, наряду с пероксидом водорода, нами в 1986–1988 гг. в воде днепровских водохранилищ были обнаружены вещества (до 8 · 10⁻⁶ г-экв/л), сорбированные мелкодисперсными (порядка 1 мкм) фракциями взвешенных частиц и обладающие сильно выраженными окислительными свойствами, причем при высоких концентрациях окислителя пероксид водорода в воде не регистрировался. По аналогии с наблюдавшимися ранее “сверх-окислителями” в Кучурганском водохранилище [5] можно прийти к выводу, что носителями “сверхокислительных” эквивалентов являются микроколлоидальные частицы смешанно-валентного марганца(III,IV).

В проведенных в данной работе токсикологических исследованиях наиболее информативным оказался метод биотестирования, основанный на оценке генотоксичности образцов воды по индукции хромосомных aberrаций в клетках китайского хомячка (*in vitro*). Цитогенетические методы контроля широко распространены при работе с источниками радиоактивных излучений. Наличие хромосомных нарушений в данном тесте служит косвенным свидетельством того, что основной вклад в генотоксичность изученных проб воды из поверхностных и подземных вод на территориях, подверженных радиационному загрязнению, вносят “скрытые” источники радиационного воздействия, низкого по интенсивности, но приводящего к образованию ионов металлов, в частности ионов марганца в сверхокисленном состоянии, которые служат своего рода “носителями” ОН-радикалов. Таким образом, метод оценки генотоксичности проб воды может быть рекомендован для использования в системе санитарно-экологического контроля качества воды природных водных объектов.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований ИХФ РАН № 46.15 государственного задания № 0082-2014-0005 (номер государственной регистрации ЦИТИС: АААА-А17-117091220076-4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Скурлатов Ю.И., Штамм Е.В., Роцин А.В. и др. // Хим. физика. 2019. Т. 38. № 11. С. 65.
2. Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ. Сер. “Гигиенические критерии состояния окружающей среды”. Женева: ВОЗ, 1989. Вып. 51.
3. Ames B.N., Mccann J., Yamasaki E. // Mutation Res. 1975. V. 31. № 6. P. 347.
4. Bean C.L., Galloway S.M. // Ibid. 1993. V. 292. № 1. P. 3.
5. Штамм Е.В., Скурлатов Ю.И., Роцин А.В. и др. // Хим. физика. 2019. Т. 38. № 11. С. 16.
6. Захаров Н.Ф., Калпакова Е.С., Еголина Н.А. // Цитология. 1966. Т. 8. № 1. С. 193.
7. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции тест-системой “Эколюм”. ПНД ФТ 14.1:2:3:4.11-04 (16.1:2:3:3.8-04); <http://www.bestpravo.rurossijskoje/ys-pravo/w7p.htm>
8. Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. М.: РЭФИА, НИА-Природа, 2002. С. 26.
9. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. Биологические методы контроля ФР.1.39.2007.03221. М.: АКВАРОС, 2007.
10. Штамм Е.В., Скурлатов Ю.И., Козлова Н.Б. и др. // Водные ресурсы. 2011. Т. 38. № 1. С. 1.
11. Андрияшина Т.В., Саратовских Е.А., Мартынова и др. // Хим. физика. 2015. Т. 34. № 6. С. 48.
12. Швыдкий В.О., Повх А.Ю., Шишкина Л.Н. и др. // Хим. безопасность. 2019. Т. 3. № 1. С. 118; <https://doi.org/10.25514/CHS.2019.1.15016>
13. Травин С.О., Громов О.Б. // Хим. безопасность. 2018. Т. 2. № 1. С. 50; <https://doi.org/10.25514/CHS.2018.1.12882>
14. Травин С.О. // Хим. безопасность. 2018. Т. 2. № 1. С. 22; <https://doi.org/10.25514/CHS.2018.1.12881>
15. Танирбергенев Т.Б., Абилов С.К. // Цитология и генетика. 1989. Т. 23. № 6. С. 47.
16. Жмур Н.С. Государственный и производственный контроль токсичности вод методами биотестирования в России. М.: Междунар. Дом Сотрудничества, 1997. С. 117.
17. Радиоактивное и химическое загрязнение Днепра и его водохранилищ после аварии на Чернобыльской АЭС / Под ред. Романенко В.Д. Киев: Наук. думка, 1992. С. 16.
18. Штамм Е.В., Батовская Л.О. // Матер. II Всесоюз. шк. “Экологическая химия водной среды” / Под ред. Скурлатова Ю.И. М.: ИХФ АН СССР, 1988. С. 125.