

Использование зооиндикатора *Viviparus viviparus* L. для оценки масштабов экологической опасности и степени токсичности технической авиационной жидкости «Skykem»

© 2017. С. Х. Солтанов, аспирант,
 Х. Б. Юнусов, к. х. н., доцент, декан биолого-химического факультета,
 Московский государственный областной университет,
 141014, Россия, Московская область, г. Мытищи, ул. Веры Володиной, 24,
 e-mail: office@mgou.ru

Работа представляет собой анализ технической авиационной жидкости для санитарных узлов воздушных судов «Skykem» методом зооиндикации. В качестве живого материала выбраны особи живородки речной *Viviparus viviparus* L., как одного из самых распространённых видов биоиндикаторов на территории Московской области. Опыт основан на изучении изменчивости двух показателей: активности кислой фосфатазы и дезоксирибонуклеазы.

Благодаря проведённой аналитической работе удалось определить степень экологической опасности вещества, рассчитать масштабы загрязнения приаэродромных территории. Основываясь на анализе лабораторных данных, найдены пути решения поставленной проблемы. На основе результатов, свидетельствующих об угрозе для окружающей среды, построены графики изменения активности кислой фосфатазы и ДНКазы живородки речной, впервые дана характеристика негативных экологических свойств вещества «Skykem». По результатам исследования сделаны выводы и даны рекомендации по применению данного метода.

Ключевые слова: гражданская авиация, техническая жидкость, «Skykem», тетрадецилтриметиламмоний бромид, экологическая опасность, зооиндикатор, *Viviparus viviparus* L., ДНКазы, кислая фосфатаза.

Using the zooinicator *Viviparus viviparus* L. in order to identify environmental hazards from technical aviation fluid «Skykem»

S. Kh. Soltanov, Kh. B. Yunusov,
 Moscow State Regional University,
 24 V. Voloshinoy St., Mytischy, Moscow region, Russia, 141014,
 e-mail: office@mgou.ru

The work is the analysis of the technical aviation liquid for sanitary facilities of aircrafts “Skykem” using the method of zooindication. The obtained results can be used to control the state of the environment of airport services. Due to a small number of universal methods for studying and determining the environmental harmfulness of aviation technical substances, the study has scientific and practical significance. Determination of the degree of risk in the leakage of this fluid will allow aviation authorities to impose restrictions on the use of the systems of aircraft sanitary units of the substance. This step will lead to creation and adoption of environmentally friendly chemical liquids, the consequence will be reduction of environmental load on the pre-airport land. As the living material, the species of river snail (*Viviparus viviparus* L.) are selected, as one of the most common types of bioindicators in Moscow region. Experience is based on the change in the activity of two values: acid phosphatase and DNase. The experimental data allow us to observe the dynamics of the activity of acid phosphatase and DNase of the river snail (*Viviparus viviparus* L.) in response to acute toxic effects of technical aviation fluid “Skykem”, as well as changes in the activity of investigated enzymes of experimental animals in normal conditions. It is shown that the activity of the studied enzymes varies in relation as to the original value, thus in the experimental group and the control group throughout the whole experiment in water without toxicant.

During the analysis the degree of environmental hazard of the substance is determined, the extent of pollution of the site is calculated. Based on the analysis of laboratory data, the ways of solving the problem were found. Basing on the results, the threat to the environment is indicated, the graphs of changes in the activity of acid phosphatase and DNase of the river snail are built, for the first time the characteristics of negative environmental properties of the substance “Skykem” is given. The dynamics of changes are tracked in activity of enzymes when exposed to shellfish toxic substances. The degree of similarities and differences are evaluated in adaptive changes in the studied enzymes in a time interval. According to the results of the study the conclusions are drawn and recommendations for using this method in a production environment are given.

Keywords: civil aircraft, technical liquid, «Skykem», tetradecyltrimethylammonium bromide, environmental hazard, zooinicator, *Viviparus viviparus* L., DNase, acid phosphatase.

Авиационный узел – многофакторный источник загрязнения окружающей среды. Одним из аспектов его функционирования является растущая с каждым годом утечка авиационных жидкостей, связанная с увеличением объёмов международных авиаперевозок.

Экологическая опасность – это отрицательное воздействие средовых факторов и/или интенсивности их влияния, выходящее за пределы биологической приспособляемости экосистем к изменениям среды обитания и создающее прямую угрозу жизни и здоровью населения [1]. «Skykem» – вещество для обработки санитарных узлов воздушных судов гражданской авиации [2, 3], часто применяемое в аэропортах Московского авиационного узла (МАУ). Оно относится к факторам опосредованного действия (загрязнение природной среды).

По параметрам острой токсичности (по ГОСТ 12.1.007-76) средство «Skykem» относится к 3 классу опасности (умеренно опасное вещество) при введении в желудок, к 4 классу опасности (малоопасное вещество) – при нанесении на кожу и при ингаляционном воздействии паров. ПДК в воздухе рабочей зоны для аэрозоля средства составляет 1,0 мг/м³. К биологическим эффектам средства можно отнести снижение содержания РНК в жабрах и ноге моллюска в 1,4–1,5 раза [4], угнетение процессов биосинтеза белка в данных органах, высокий уровень окислительных процессов и рост активности ферментов антиоксидантной защиты.

Целью исследования было определение масштабов экологической опасности и степени токсичности технической авиационной жидкости «Skykem».

Объекты и методы

Кислая фосфатаза и ДНКаза – биомаркеры токсического воздействия на гидробионтов. Метод основан на изменении активности представленных ферментов и запатентован лабораторией «Экологической биохимии» Московского государственного областного университета, который универсален и прост в применении.

В качестве биологического материала для исследования были непосредственно использованы пищеварительные железы (гепатопанкреас) пресноводного моллюска живородки речной (*Viviparus viviparus* L.). Выбор моллюсков в качестве объекта исследования основывался на том, что в адаптации к изменяющимся условиям среды ведущую роль у них играют

процессы, происходящие на уровне клеточного и тканевого метаболизма. Ареал гидробионта включает также Европу, Закавказье и Малую Азию, что позволяет использовать результаты работы для применения на территории других субъектов РФ или государств.

Ввиду особенностей размножения (яйцеживорождение) и образа жизни – постоянное нахождение в составе бентоса, этот моллюск не способен к дальним миграциям, при этом встречается практически в любых водоёмах, вне зависимости от величины антропогенной нагрузки на них, что позволяет рассматривать данный вид, как обладающий широким адаптивным потенциалом к гидрохимическому режиму. Сбор моллюсков осуществляли в октябре 2016 г. в Пестовском водохранилище (с. Тишково Пушкинского района Московской области) с поверхности водной растительности и дна прибрежной зоны водоёма. Эксперимент проводился в научно-исследовательской лаборатории экологической биохимии на базе Московского государственного областного университета.

Акклимацию подопытных животных проводили в аквариумах, заполненных водой, растениями и микроорганизмами, отобранными в месте сбора моллюсков, при постоянной аэрации в течение двух недель. На дно каждого аквариума был насыпан толстый (8–10 см) слой промытого песка, ниже которого находился речной ил. Водная экосистема состояла из типичных представителей флоры и фауны водоёмов Московской области: водорослей, инфузорий, амёб. Температура содержания животных находилась в автономном режиме, в диапазоне от 20 до 29 °С. Использовался естественный суточный световой режим (день/ночь), а также обогреватель с автоматической регулировкой температуры.

Затем в искусственно созданную природную среду добавляли исследуемое авиационное вещество для санитарных узлов воздушных судов «Skykem». Оно содержит в своём составе тетрадецилтриметиламмоний бромид (ТДТМА) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{NBr}(\text{CH}_3)_3$ в количестве 36% от веса жидкости [5, 6]. Токсикант использовали в разведении с водой, соответствующем требованиям к использованию, согласно инструкции по применению (2,5 г/л). Время экспозиции составляло 2, 4, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96 часов [7].

По истечении времени экспозиции у моллюсков извлекали пищеварительную железу методом вивисекции, промывали её 0,15 М раствором NaCl и гомогенизировали в охлаждённой фарфоровой ступке в течение 5 минут растиранием с битым кварцевым стеклом, за-

тем экстрагировали белки. В качестве экстрагирующей жидкости использовали 0,5%-ный раствор тритона X-100 на дистиллированной воде, прибавляемый в десятикратном объёме по отношению к навеске ткани.

Контролем служили особи, отобранные из аквариума непосредственно перед опытом, а также содержащиеся в воде без добавления токсиканта, при прочих равных условиях, в течение тех же временных интервалов. Проводимый опыт основывался на определении активности кислой фосфатазы и ДНКазы [8–10]. Колебания данных показателей позволяет определить степень реакции организма животного на воздействие внешнего фактора, в данном случае средства «Skykem».

Активность кислой фосфатазы определяли по скорости гидролиза модельного субстрата пара-нитрофенилфосфата (п-нитрофенилфосфата) спектрофотометрическим методом. За единицу активности фермента принималось такое его количество, которое катализирует образование 1 мкМ п-нитрофенола за 1 минуту при 37 °С.

С помощью флуориметрического метода была определена активность ДНКазы. Метод основан на использовании в качестве субстрата синтетического олигонуклеотидного фрагмента ДНК (одно- или двухцепочечного), меченого парой флуорофоров, представленной сигнальным красителем и тушителем флуоресценции, аналогично зондам типа TaqMan [11]. Для детекции флуоресценции был использован спектрофлуориметр «Флюорат-02» [12, 13].

За единицу активности фермента принимали такое его количество, которое приводит к увеличению флуоресценции в реакционной смеси за 1 мин. Удельную активность ДНКазы выражали в единицах активности на 1 мг белка с учётом разбавления.

Результаты исследования

Приняв контрольные значения активности кислой фосфатазы за единицу, построен график изменения активности фермента под воздействием токсиканта, из которого видно, что в целом происходит значительное увеличение активности фермента (рис. 1).

На всём протяжении экспозиции наблюдается цикличное изменение активности кислой фосфатазы – после резкого всплеска (в 1,5–2 раза) происходит снижение активности практически до уровня контроля, после чего она вновь начинает расти. Периоды роста активности находятся во временных интерва-

лах от 0 до 4, от 12 до 24 и от 36 час экспозиции до окончания эксперимента, таким образом, изменение активности фермента проходит 2 цикла. По истечении 36 час экспозиции активность кислой фосфатазы снижается практически до контрольного значения к 36 час. Главным доказательством экологической опасности для окружающей среды технической жидкости стал тот факт, что после 60 час экспозиции наблюдалась полная гибель исследуемых животных, хотя длительность эксперимента должна была составлять 72 час.

Приняв контрольные значения активности ДНКазы за единицу, построен график изменения активности фермента под воздействием токсиканта (рис. 2). В целом, можно отметить более низкие значения активности фермента по сравнению с контролем. Однако, при экспозиции от 24 до 48 час происходит резкое увеличение ферментативной активности: практически в 3 раза по отношению к контрольным значениям. От 48 час до гибели моллюсков значения активности фермента были практически равны 0. Это подтверждает факт острой токсичности вещества. В первые часы воздействия токсиканта организм зооиндикатора пытается активно поддерживать внутренний гомеостаз, но, обладая узким диапазоном толерантности, не способен на длительное восстановление. Значения, близкие к нулю свидетельствуют о практически полном отказе в работе жизненно-важных систем животного.

Для определения масштабов загрязнения были взяты данные по одному из крупнейших аэропортов, как Европы, так и МАУ, аэропорта «Домодедово». Среднее количество рейсов в сутки за 2017 г. составляет порядка 700 [14]. При этом обслуживание санитарных узлов производится у более половины воздушных судов. Возьмём самый нижний порог – 50%. При заправке происходит утечка жидкости объёмом 1,5 л. За сутки получается 525 л. Годовое функционирование аэропорта даёт неконтролируемый слив в объёме 191 625 л. В данных расчётах учитывается только та жидкость, которая не попадает в сливные отсеки обслуживающих автомобилей, а вытекает на перрон. В расчёт не берём испарение – в тёплое время года и кристаллизацию – в холодное. По результатам эксперимента удалось выяснить, что исследуемое вещество в течение 60 час способно полностью уничтожить популяцию моллюсков вне зависимости от их количества. Высота средней особи составляет 3 см. Для полного погружения в жидкую среду представителя исследуемой фауны необходи-

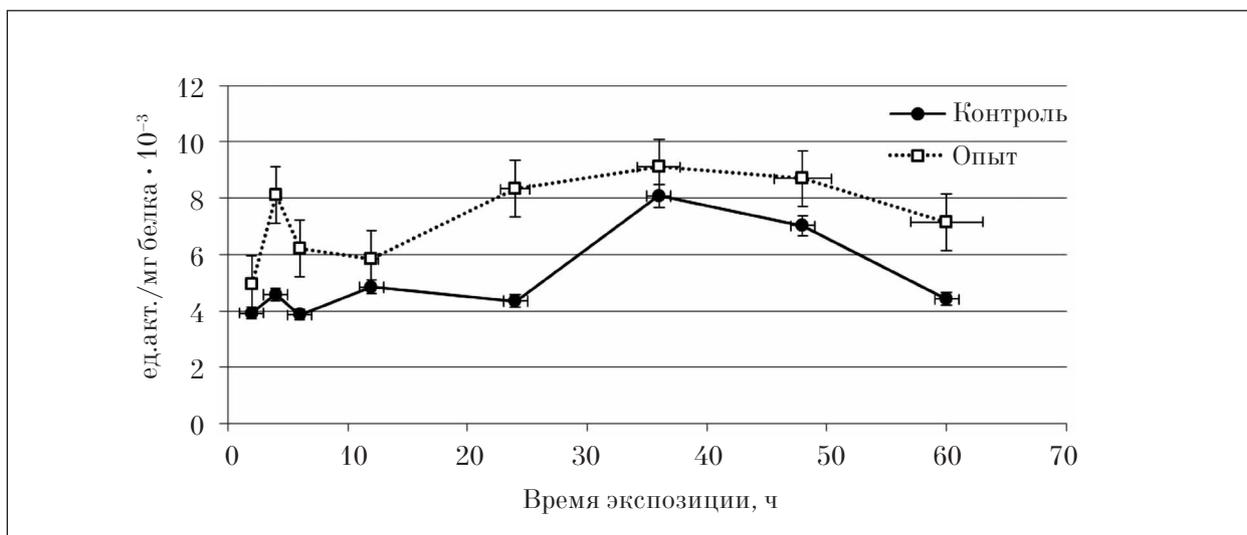


Рис. 1. Активность кислой фосфатазы живородки речной *Viviparus viviparus* L. при действии раствора «Skykem» (2,5 г/л)

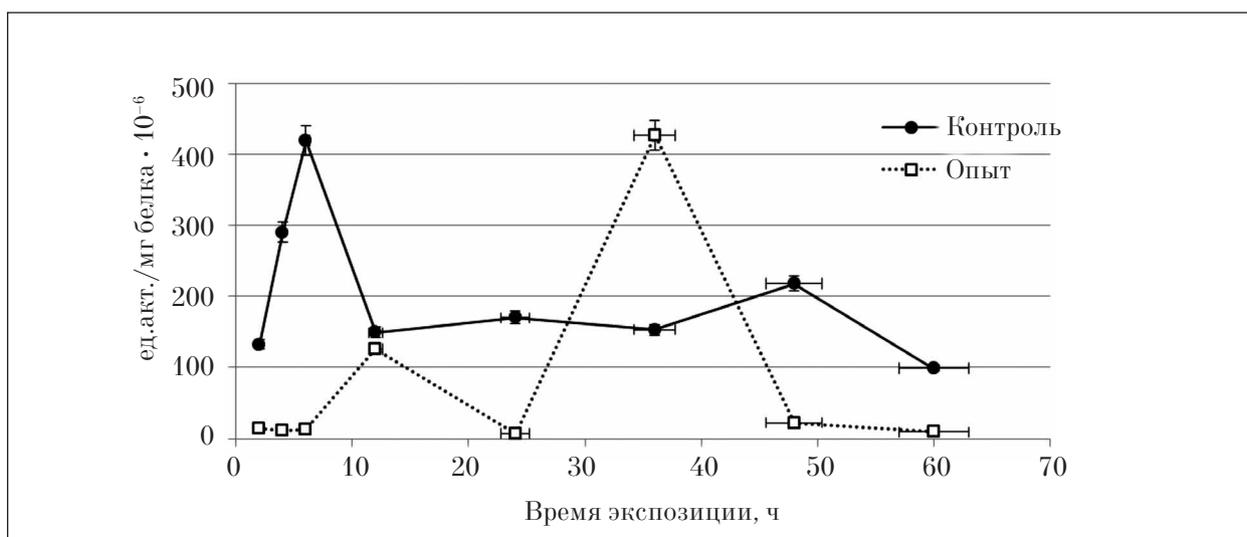


Рис. 2. Активность ДНКазы живородки речной *Viviparus viviparus* L. при действии раствора «Skykem» (2,5 г/л)

ма высота столба, равная 5 см. Тогда теоретическая площадь загрязнения составит $191\,625 \cdot 10^3 \text{ см}^3 / 5 \text{ см} = 3833 \text{ м}^2$. Полученный результат свидетельствует о большом масштабе экологических проблем только от одних технологических недостатков системы заправки.

Обсуждение полученных результатов

Полученные результаты удалось сопоставить с данными по влиянию ионов никеля и фторид-ионов на активность ферментов в схожих опытах [15, 16]. В работе [15] исследуется влияние ионов никеля, угнетающих активность кислой фосфатазы при времени воздействия более 10 часов. Отмечается резкий всплеск активности фермента к 4 часу экспозиции

в опытной группе животных. Идентичная ситуация, как можно проследить из данных рисунка 1, наблюдается и в случае интоксикации авиационной жидкостью.

В работе [16] изучена активность фермента в результате действия фторид-ионов. На протяжении первых 12 час эксперимента активность кислой фосфатазы несколько раз резко изменялась. При этом в интервалах 0–2 и 4–6 час наблюдалось угнетение активности, тогда как от 2 до 4 час и от 6 до 12 час активность фермента возрастала, достигая своего максимального значения. При экспозиции равной 60 час и более изменение активности ферментов становится стабильным, что свидетельствует об окончании процессов адаптации при некотором снижении метаболизма. При

сопоставлении с полученными данными отмечали резкую активность фермента на 4 час, что говорит о высоком стрессе у организма.

Отличительной особенностью влияния «Skykem» стало отсутствие экспозиции на 60 час в сравнении с другими опытами. В связи с этим можно сделать вывод, что токсичность «Skykem» выше, чем у фторид-ионов и ионов никеля.

Заключение

Таким образом, использование метода, основанного на изменении активности кислот фосфатазы и ДНКазы живородки речной *Viviparus viviparus* L., позволило выявить скрытые негативные эффекты санитарно-гигиенической жидкости «Skykem».

В ходе исследования методом биоиндикации определена степень токсичности санитарно-гигиенической жидкости «Skykem». Поставленный опыт наглядно продемонстрировал сокрытие производителем информации о санитарно-гигиенической характеристике санитарно-гигиенической жидкости «Skykem».

В ходе работы определён масштаб загрязнения в течение годовой работы одного из аэропортов Московского авиационного узла. Проведена сравнительная характеристика токсичности с другими поллютантами. Универсальность поставленного опыта даёт возможность изучить и другие технические авиационные вещества (масла, рабочие жидкости гидросистем воздушных судов, противообледенительные смеси [17]) на предмет отрицательного воздействия на состояние окружающей среды. Негативные изменения в ферментативной активности зооиндикатора являются показателем опасности применения авиационной жидкости «Skykem».

Для предотвращения или снижения риска загрязнения природных и антропогенных систем необходимо применять современные экологические методы очищения окружающей среды, например фиторемедиацию [18]. Проведение постоянного мониторинга с учётом климатических особенностей региона расположения авиационных узлов позволит уменьшить вероятность ухудшения качества природных сред и объектов.

Литература

1. Peter Calow The encyclopedia of ecology & environmental management. John Wiley & Sons, 2009. P. 336–337.
2. SkyKem – Advanced hygiene technology for the aircraft industry [Электронный ресурс] <http://www.skykem.co.uk/> (Дата обращения 16.08.2017).

3. База данных Роспотребнадзора. Информация по свидетельству 77.99.1.2.U.2081.4.10 «Жидкость для санузлов воздушных судов» («Aircraft Toiletfluid») [Электронный ресурс] <http://www.crc2.ru/all/77.99.1.2.U.2081.4.10> (Дата обращения 16.08.2017).

4. Черноморские моллюски: элементы сравнительной и экологической биохимии. Институт биологии южных морей НАН Украины / Под ред. Г.Е. Шульмана, А.А. Солдатов. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2014. 323 с.

5. Солтанов С.Х., Юнусов Х.Б. Деградация окружающей среды вследствие утечки технической жидкости «SkyKem» при наземном обслуживании воздушных судов гражданской авиации // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. 2016. № 1. С. 64–69.

6. Карташева Н.Н., Остроумов С.А. Тетрадецилтриметиламмоний бромид // Токсикологический вестник. 1998. № 5. С. 30–32.

7. Иваненко Н.В. Экологическая токсикология: Учебное пособие. Владивосток: Изд-во ВГУЭС, 2006. 108 с.

8. Дроганова Т.С., Поликарпова Л.В. Кислая фосфатаза как биомаркер токсического воздействия на гидробионтов // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. 2016. № 1. С. 8–12.

9. Цветков И.Л., Цветкова М.А., Зарубин С.Л. Оценка качества сточных и природных вод с помощью биохимического показателя – активности кислот фосфатазы пресноводных моллюсков // Водные ресурсы. 2006. Т. 33. № 1. С. 62–70.

10. National Center for Biotechnology Information. Gene. DNASE1 deoxyribonuclease 1. [Электронный ресурс] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=1773> (Дата обращения 16.08.2017).

11. Цветков И.Л., Поликарпова Л.В., Коничев А.С. Новый метод количественного определения активности дезоксирибонуклеазы с использованием флуоресцентно меченых олигонуклеотидов в качестве субстрата // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. 2012. № 3. С. 46–51

12. Анализатор жидкости «Флюорат®-02-2М»: описание [Электронный ресурс] <http://www.lumex.ru/catalog/flyuorat-02-2m.php> (Дата обращения 16.08.2017).

13. Федеральный закон «Об обеспечении единства измерений» от 26.06.2008 № 102-ФЗ.

14. Мобильно обо всём: Авиация. Оперативно и доступно обо всём, касающемся авиации [Электронный ресурс] <http://avia.mvsm.ru/Airport.aspx?Mode=ststs&Code=DNE&IDConten=0&IDMenu=0&Dir=1> (Дата обращения 16.08.2017).

15. Дроганова Т.С., Поликарпова Л.В. Изменение активности ДНКазы живородки речной под влиянием

катионов никеля // Актуальные проблемы биологической и химической экологии: Сборник материалов V международной научно-практической конференции. 2016. С. 224–228.

16. Романенко Н.С., Дроганова Т.С., Поликарпова Л.В. Изменение активности ДНКазы живородки речной под воздействием фторид-иона // Проблемы экологии Московской области: Сборник научных материалов. Москва, 2015. С. 159–161.

17. Солтанов С.Х. Экологические последствия применения противообледенительных жидкостей «Octaflo EG» и «Maxflight 04» при обработке воздушных судов гражданской авиации в осенне-зимний период // Международный научно-исследовательский журнал. 2016. № 6–2 (48). С. 140–143.

18. Кривошея И.В., Солтанов С.Х., Лялина И.Ю., Юнусов Х.Б. Применение фиторемедиации как одного из эффективных и перспективных методов очистки почв от тяжёлых металлов на территориях, прилегающих к аэродромам и автозаправочным станциям // Проблемы экологии Московской области: Сборник научных материалов. Москва, 2015. С. 84–87.

References

1. Peter Calow The encyclopedia of ecology & environmental management. John Wiley & Sons, 2009. P. 336–337.

2. SkyKem – Advanced hygiene technology for the aircraft industry [Internet resource] <http://www.skykem.co.uk/> (Accessed: 16.08.2017).

3. The database of the CPS. Information on testimony 77.99.1.2.2081.4.10 “Liquid for toilets of aircraft” (“AircraftToiletfluid”) [Internet resource] <http://www.crc2.ru/all/77.99.1.2.U.2081.4.10> (Accessed: 16.08.2017) (in Russian).

4. Black sea mollusks: elements of comparative and environmental biochemistry / Eds. G.E. Shulman, A.A. Soldatov. Institute of biology of southern seas of NAS of Ukraine. Sevastopol: EKOSY-Gidrofizika, 2014. 323 p. (in Russian).

5. Soltanov S.H., Yunusov H.B. Degradation of the environment due to leakage of “Skykem” liquid at ground handling of civil aircrafts // Vestnik MGOU. Seriya: Estestvennye Nauki. 2016. No. 1. P. 64–69 (in Russian).

6. Kartasheva N.N., Ostroumov S.A. Tetradecyltrimethylammonium bromid // Toksikologicheskij vestnik. 1998. No. 5. P. 30–32 (in Russian).

7. Ivanenko N.V. Environmental toxicology: a tutorial. Vladivostok: VGUES, 2006. 108 p. (in Russian).

8. Droganova T., Polykarpova L. Acid phosphatase as a biomarker of toxic effects on aquatic organisms // Vestnik MGOU. Seriya: Estestvennye Nauki. 2016. No. 1. P. 8–12 (in Russian).

9. Tsvetkov I.L., Tsvetkova M.A., Zarubin S.L. Assessment of the quality of natural and waste waters with a biochemical index of the activity of acid phosphatase in freshwater mussels // Vodnye resursy. 2006. V. 33. No. 1. P. 62–70 (in Russian).

10. National Center for Biotechnology Information. Gene. DNASE1 deoxyribonuclease 1. [Internet resource] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=1773> (Accessed: 16.08.2017).

11. Tsvetkov L.I., Polikarpova L.V., Konichev A.S. A new method of quantitative determination of DNAase activity using fluorescently labeled oligonucleotides as substrate // Vestnik MGOU. Seriya: Estestvennye Nauki. 2012. No. 3. P. 46–51 (in Russian).

12. The fluid analyzer “FluoratR-02-2M”: description [Internet resource] <http://www.lumex.ru/catalog/flyuorat-02-2m.php> (Accessed: 16.08.2017) (in Russian).

13. The Federal law “On ensuring unity of measurements” from 26.06.2008 No. 102-FZ (in Russian).

14. Aviation. Quickly and available about everything related to aviation [Internet resource] <http://avia.mvsm.ru/Airport.aspx?Mode=stats&Code=DME&IDContent=0&IDMenu=0&Dir=1> (Accessed: 16.08.2017) (in Russian).

15. Droganova T.S., Polikarpova L.V. The change of activity DNAase the river snail under the influence of cations of nickel // Actual problems of biological and chemical ecology: Sbornik materialov V mezhdunarodnoy nauchno-practicheskoy konferentsii. 2016. P. 224–228 (in Russian).

16. Romanenko N.S., Droganova T.S., Polikarpova L.V. Acid phosphatase activity in the DNAase of a river snail under the influence of fluoride ions // Problems of ecology of the Moscow region: Sbornik nauchnykh materialov. Moskva, 2015. P. 159–161 (in Russian).

17. Soltanov S.H. The ecological consequences of applying of the de-icing and anti-icing liquids “Octaflo EG” and “Maxflight 04” in processing civil aircrafts in autumn-winter period // Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal. 2016. No. 6 2 (48). P. 140–143 (in Russian).

18. Krivosheya I.V., Soltanov S.H., Lyalina I.Yu., Yunusov H.B. The use of phytoremediation as one of the effective and perspective methods of soil purification from heavy metals at territories adjacent to airfields and petrol stations // Problems of ecology of the Moscow region: Sbornik nauchnykh materialov. Moskva, 2015. P. 84–87 (in Russian).