

Направления использования биотехнологических способов при ликвидации последствий работы объектов по уничтожению химического оружия

© 2017. А. А. Янковская¹, офицер отдела, И. В. Филимонов², к. т. н., с. н. с.,
Н. В. Завьялова², д. б. н., профессор, г. н. с., Е. Н. Ефременко³, д. б. н.,
зав. лабораторией, В. И. Холстов⁴, д. х. н., профессор, руководитель центра

¹Федеральное управление по безопасному хранению
и уничтожению химического оружия,
115487, Россия, г. Москва, ул. Садовники, 4-а,

²27 Научный центр Министерства обороны Российской Федерации,
105005, Россия, г. Москва, Бригадирский переулок, 13,

³Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
119234, Россия, г. Москва, ул. Воробьёвы горы, 1,

⁴Федеральное государственное унитарное предприятие “Государственный
научно-исследовательский институт органической химии и технологий”,
111024, Россия, г. Москва, шоссе Энтузиастов, 23,
e-mail: fubhuho@mail.ru

При проведении мероприятий по ликвидации последствий работы объектов по уничтожению химического оружия предлагается использование биотехнологических способов деструкции продуктов детоксикации отравляющих веществ (ОВ). Биотехнологические способы предусматривают обязательное применение биокатализаторов на основе микроорганизмов-деструкторов (или их консорциумов) и продуцируемых ими ферментов. Биотехнологические способы позволяют провести: обезвреживание контактировавшего с ОВ оборудования и стройматериалов, очистку *in situ* или *ex situ* территорий, на которых хранилось химическое оружие, санацию объектов по хранению и уничтожению химического оружия. При этом реабилитационные работы возможно выполнять на значительных площадях при различных концентрациях загрязнителей без накопления токсичных вторичных продуктов за счёт полной их минерализации. Предлагается дорожная карта экологически безопасного проведения реабилитационных работ с использованием биотехнологических способов. При её разработке использованы данные теоретических и экспериментальных исследований по созданию биокатализаторов на основе микроорганизмов-деструкторов и ферментов, а также обеззараживающих пенных покрытий.

Ключевые слова: биокатализаторы, микроорганизмы-деструкторы, ферменты, продукты детоксикации токсичных веществ, пенные покрытия, биоремедиация почвы, очистка воды, органофосфатгидролазы.

Directions for use of biotechnological methods of liquidating the consequences of chemical weapons destruction

A. A. Yankovskaya¹, I. V. Filimonov², N. V. Zavyalova²,
E. N. Efremenko³, V. I. Kholstov⁴,

¹Federal Directorate for Safe Storage and Destruction of Chemical Weapons,
4a, Sadovniki St., Moscow, Russia, 115487,

²27 Research center of the Russian Ministry of Defense,
13, Pereulok Brigadirskiy, Moscow, Russia, 105005,

³Lomonosov Moscow State University,
1 Leninskie gory, Moscow, Russia, 119991,

⁴Federal State Unitary Enterprise “State Scientific Research Institute
of Organic Chemistry and Technology”,
23 Highway Enthusiasts, Moscow, Russia, 1110,
e-mail: fubhuho@mail.ru

When carrying out measures on eliminating consequences of chemical weapons destruction plants operating, using biotechnological methods of destruction of poisonous substances degradation products is offered. Biotechnological methods require the use of biocatalysts on the basis of destructor microorganisms and the enzymes produced by them. Biotechnological methods allow carrying out neutralization in contact with toxic substances equipment and materials, cleaning in situ or ex situ areas, which contained chemical weapons, reorganization of chemical weapons storage and destruction plants. In this case rehabilitation works can be performed on large areas with different concentrations of pollutants without accumulation of toxic secondary products due to their complete mineralization. A roadmap for environmentally safe rehabilitation works using biotechnological methods is proposed. In its development, the data of theoretical and experimental studies on creation of biocatalysts based on microorganisms-destructors and enzymes, as well as disinfecting foam coatings, were used.

Keywords: biocatalysts, destructor microorganisms, enzymes, products of detoxification of toxic substances, foam coatings, bioremediation of soil and water purification, organophosphate hydrolases.

Уничтожение химического оружия в России в настоящее время подходит к своему завершению. За весь период эксплуатации всех семи объектов по уничтожению химического оружия (УХО) не было зафиксировано случаев поражения отравляющими веществами работающего персонала и населения, проживающего вблизи объектов. Также в регионах хранения и уничтожения химического оружия не было зафиксировано фактов нанесения ущерба окружающей среде [1, 2].

Руководство страны намерено использовать высвобожденные производственные мощности объектов УХО в интересах оборонного или хозяйственного значения. Для этого необходимо провести комплекс работ по выводу этих объектов из эксплуатации, в частности создать технологические линии по обеззараживанию контактировавшего с ОВ оборудования и стройматериалов; санацию и рекультивирование территорий, на которых хранилось химическое оружие [1].

Это не простая и достаточно продолжительная работа по времени, которая должна быть реализована в рамках Федеральной целевой программы «Ликвидация последствий деятельности объектов по хранению и объектов по уничтожению химического оружия в Российской Федерации на 2017–2022 годы» [1].

Перепрофилирование объектов – наиболее актуальный вопрос современности. Оно предусматривает ликвидацию последствия деятельности объектов УХО, для чего необходимо полностью избавиться от опасных отходов. Осуществить дегазацию оборудования, задействованного в процессе уничтожения. Провести реабилитационные работы на промплощадках, где размещены объекты УХО [2].

Федеральной целевой программой «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации» [3] и Санитарными правилами СП 2.2.1.2513-09 [4] предусмотрено проведение работ по санации загрязнённых территорий, на которых были расположены

объекты по производству или разработке, хранению и уничтожению химического оружия после завершения всех работ и выведения их из эксплуатации, однако в этих документах нет указаний о конкретных технологиях очистки территорий. Поэтому разработка и выбор наиболее перспективных из них является важной задачей на этапе ликвидации последствий работы объектов по уничтожению химического оружия [5].

Необходимость разработки технологий по санации связана с тем, что загрязнения могут быть причиной таких последствий, как торможение хода почвообразовательных процессов и самоочищения почв, снижение урожайности, накопление вредных веществ в окружающей среде, в водных бассейнах, в растениях, которые прямо или опосредованно могут оказывать влияние на организм человека [5].

Направления использования биотехнологических способов при ликвидации последствий работы объектов УХО

При ликвидации последствий работы объектов УХО могут быть применены физические, химические, физико-химические и биотехнологические способы или их комбинации.

Биотехнологические способы могут быть использованы в следующих направлениях ликвидации последствий работы объектов УХО:

- обезвреживание контактировавшего с ОВ оборудования и стройматериалов;
- очистка территорий (ремедиация почвы, и очистка воды), на которых хранилось химическое оружие;
- реабилитационные работы in situ или ex situ на промплощадках объектов уничтожения химического оружия.

Все биотехнологические способы основываются на биокатализаторах – микроор-

ганизмах-деструкторах или их консорциумах и продуцируемых ими ферментах.

Применение биотехнологических способов, согласно оценкам экспертов, для обезвреживания оборудования и строительных материалов, очистки территорий (ремедиации почвы и очистки воды), реабилитационных работ *in situ* или *ex situ* на промплощадках объектов УХО значительно экономичнее традиционных физико-химических способов. Применение биокатализаторов на основе клеток-деструкторов примерно в 50–100 раз дешевле принятых химических или физических методов [6–9].

Кроме того, биотехнологические способы позволяют решить проблему вторичных загрязнений, так как разрушение токсичных ксенобиотиков проводится без накопления вредных вторичных продуктов. Благодаря использованию ферментов, специальных анаэробных или аэробных штаммов микроорганизмов-деструкторов или их консорциумов возможно осуществить обеззараживание значительных объёмов и концентраций загрязнителей, а также больших территорий. Бионейтрализация продуктов химического разрушения ОБ делает процесс их уничтожения необратимым за счёт минерализации загрязнителей [10–16].

Дорожная карта биотехнологических экологически безопасных реабилитационных работ

Создание «Дорожной карты биотехнологических экологически безопасных реабилитационных работ» («Дорожной карты») базировалось на: анализе данных научной литературы и собственных исследований в области получения биопрепаратов (биокатализаторов); разработке биотехнологий биоремедиации почвы и очистки воды, загрязнённых токсичными химикатами, в том числе ОБ, и продуктами их химического разрушения; выборе ферментов и штаммов микроорганизмов, обладающих высокой деструктурирующей способностью и достаточной толерантностью к ФОВ, люизиту, иприту и продуктам их разрушения; анализе и выборе методов аналитического контроля процессов биодеструкции загрязнителей в почве и воде; на исследованиях по созданию ферментсодержащих пенных покрытий для обезвреживания контактировавшего с ОБ оборудования и строительных материалов.

Важное значение при формировании «Дорожной карты» имели данные, полученные

при ранее проведённых исследованиях по обоснованию биотехнологических способов и разработке схем получения экобиопрепаратов на основе ферментов и штаммов микроорганизмов-деструкторов фосфорорганических отравляющих веществ, иприта, люизита и продуктов их деструкции, разработке технологий и принципиальных технологических схем биоремедиации (очистки и восстановления) почвы и воды с помощью этих биопрепаратов, разработке стадий технологий биоремедиации почвы и очистки воды *in situ* и *ex situ*, созданию рецептуры ферментсодержащих пенных покрытий [17].

Разработанная «Дорожная карта», приведена на рисунке, представляет собой пошаговый порядок действий при использовании биотехнологических способов для обезвреживания контактировавшего с ОБ оборудования и строительных материалов; очистки территорий (ремедиация почвы и очистка воды), на которых хранилось химическое оружие; реабилитационных работ *in situ* или *ex situ* на промплощадках объектов УХО.

По нашему мнению, прежде чем приступить к обеззараживанию контактировавшего с ОБ оборудования и строительных материалов, очистке территорий (ремедиация почвы и очистка воды), на которых хранилось химическое оружие и реабилитационных работ *in situ* или *ex situ* на промплощадках объектов УХО при помощи биотехнологических способов, следует провести тщательный анализ поверхностей оборудования и строительных материалов, территорий, на которых хранилось химическое оружие и промплощадок объектов УХО. Установить тип токсичного соединения, его концентрации, как на поверхности оборудования и строительных материалов, так и в почве и воде. Определить глубину проникания токсичных соединений и продуктов их деструкции в почву, тип почвы, влажность и pH, процентное содержание гумуса на территориях, где хранилось химическое оружие и на промплощадках объектов УХО, а также глубину залегания грунтовых вод и их загрязнённость. То есть при обнаружении загрязнённых поверхностей оборудования, строительных материалов и территорий провести комплексное обследование и составить характеристику. Далее необходимо отобрать пробы с загрязнённого оборудования, строительных материалов, территорий и установить жизнеспособность природных микроорганизмов в почве и воде.

Такое обследование является **первым шагом** в порядке действий при проведении биотехнологических реабилитационных работ.

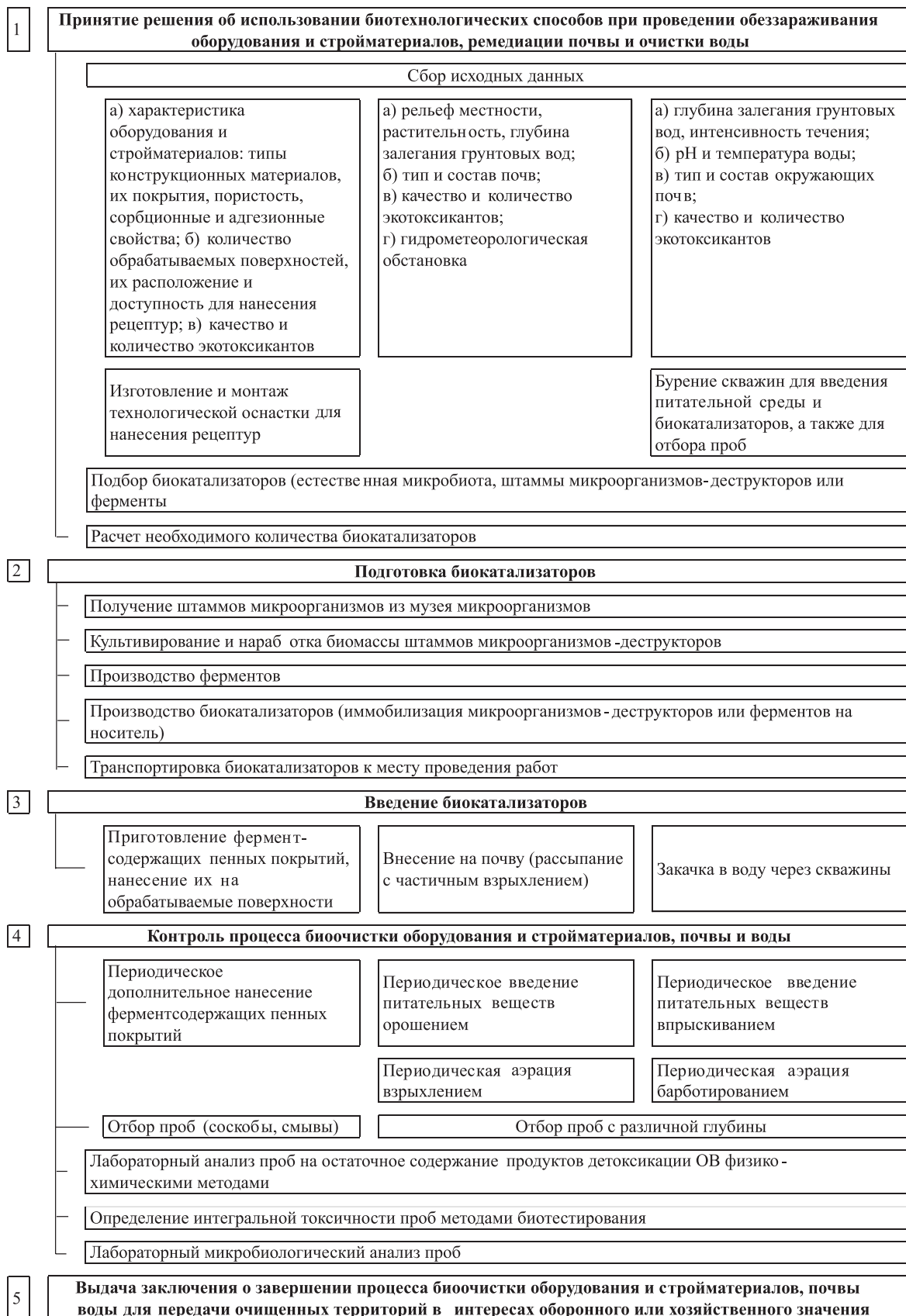


Рис. Дорожная карта экологически безопасного проведения реабилитационных работ с использованием биотехнологических способов

По его результатам должны быть составлены карты-схемы с отображением информации (выявленных границ распределения специфических загрязняющих веществ на исследуемых поверхностях оборудования, стройматериалов и территориях; их концентрации); разработаны исходные данные для выполнения комплекса мероприятий по приведению в безопасное состояние загрязнённых поверхностей и территорий; принято решение о проведении биотехнологического обеззараживания, биоремедиации и очистки; разработан алгоритм проведения биотехнологического обеззараживания, биоремедиации и очистки; осуществлен выбор технологических операций (в зависимости от установленного качественного и количественного показателя загрязнения), которые будут использованы для обеззараживания поверхностей оборудования и стройматериалов, биоремедиации почвы и очистки воды.

Одновременно проводится подбор биокатализаторов к установленным загрязнителям, расчёт необходимого их количества, определяется объём поверхностей оборудования и стройматериалов, которые будут обрабатываться ферментсодержащими пенными покрытиями, ведётся подготовка к проведению биоремедиации почвы и очистки воды (бурение скважин для введения питательной среды (веществ) и отбор проб на загрязнённых территориях, на которых хранилось химическое оружие и промплощадок объектов УХО.

В случаях наличия загрязнений люизитом или продуктами его деструкции необходимо проведение обработки почвы и воды биоокисляющими бактериями, которые переведут загрязнения, содержащие мышьяк, в растворимую форму (в раствор) и сконцентрируют его в клетках этих микроорганизмов.

Вторым шагом в порядке действий при проведении биотехнологических способов обезвреживания контактировавшего с ОВ оборудования и стройматериалов, очистки территорий, на которых хранилось химическое оружие, реабилитационных работ *in situ* или *ex situ* на промплощадках объектов УХО является подготовка биокатализаторов (производство, наработка необходимого количества и их иммобилизация, транспортировка к месту проведения работ); определение возможности использования природной микрофлоры; определение жизнеспособности естественной биоты; подбор микроорганизмов и растений для восстановления окружающей среды; определение степени биодеструкции загрязни-

телей; определение количества необходимых питательных веществ для природных микроорганизмов и штаммов-деструкторов.

Третьим шагом в порядке действий при проведении биотехнологического обеззараживания является приготовление ферментсодержащих пенных покрытий и обработка ими контактировавшего с ОВ оборудования и стройматериалов, внесение в почву рассыпанием и закачка в воду через скважины биокатализаторов.

Четвертым шагом является осуществление контроля за процессом биотехнологического обеззараживания контактировавшего с ОВ оборудования и стройматериалов, биоремедиации почвы и очистки воды территорий, на которых хранилось химическое оружие и реабилитационных работ *in situ* или *ex situ* на промплощадках объектов уничтожения химического оружия. Периодическое введение питательных веществ орошением на почву и закачка через скважины; периодическая аэрация взрыхлением; отбор проб; проведение токсикологических тестов проб; определение периода разрушения загрязнителей поверхности оборудования, стройматериалов, почвы и воды; определение степени обеззараживания оборудования и стройматериалов, биоремедиации почвы и очистки воды аналитическими методами.

Пятым шагом в порядке действий при проведении биотехнологического обеззараживания поверхностей оборудования и стройматериалов, биоремедиации почвы и очистки воды – составление заключения об эффективности проведённого обеззараживания, санации почвы и очистки воды; выдача заключения о завершении реабилитационных работ; передача очищенных территорий в интересах оборонного или хозяйственного значения.

Использование ферментсодержащих пенных покрытий для обеззараживания поверхности оборудования и стройматериалов

Задача деградации нейротоксичных фосфорорганических соединений (ФОС), к числу которых относятся боевые отравляющие вещества (зарин, зоман, вещество типа ви-икс), их реакционные массы, а также применяемые в сельском хозяйстве пестициды (параоксон, хлорпирифос, метилпаратион, малатион), является наиболее значимой в проблеме экологической безопасности.

Детоксикация различных ФОС с помощью биокаталитических систем имеет ряд преимуществ, а именно: она проходит в мягких условиях (не требуются сильно щелочная среда, повышенные температуры, агрессивные химические агенты). Продукты гидролиза, как правило, являются биологически деградируемыми. В качестве биокатализаторов особый интерес представляют различные ферменты, гидролизующие ФОС. На сегодняшний день установлено, что наиболее высокоэффективным действующим ферментом для биодеструкции ФОС является органофосфатгидролаза (ОФГ ЕС 3.1.8.1), катализирующая гидролиз эфирной связи в триэфирах ортофосфорной и фосфоновой кислот.

Идея использования ферментов, в частности органофосфатгидролазы (ОФГ), в составе пенных композиций не нова. Так, американские исследователи впервые апробировали использование высокоочищенного фермента ОФГ для введения в «пенные системы» в начале 2000-х годов. В частности, они смешивали ОФГ со «стандартным» пенообразователем для пожаротушения «First Defense», подвергали полученную смесь механическому вспениванию в течение 30–40 с и полученной пеной обрабатывали поверхность, загрязнённую ФОС. Остаточная ферментативная активность, определённая в жидкой фазе, после оседания пены, составляла 10% от изначально внесённой активности. Тем не менее такой активности было достаточно, чтобы в течение 60 минут полностью гидролизовать пестицид параоксон, нанесённый в концентрации 0,72 г/м² и распределённый по поверхности в виде слоя пены высотой 1,2 см, который был сформирован из раствора ОФГ (3,4 мг белка/л) с исходной активностью 8,9 ед./см³ или 8900,0 ед./л. Показано, что увеличение концентрации загрязняющего вещества в 5,8 раза (до 4,2 г параоксона/м²) потребовало увеличения ферментативной активности, присутствовавшей в составе пены, в 4,6 раза, но при этом степень разложения параоксона за 60 мин составила только 70% [18].

В исследованиях, проведённых в 27 Научном центре Минобороны России совместно с МГУ имени М.В. Ломоносова (химический факультет) [19, 20], была изучена дегазирующая способность пенного покрытия на основе фермента органофосфатгидролазы, содержащей гексагистидиновою последовательность (His₆-ОФГ). В качестве испытуемого вещества также использовали параоксон.

Пенное покрытие получали миксерной технологией из раствора пенообразователя ПО-

РЗА в 0,1 М карбонатном буфере (рН = 10,5) при смешивании его с ферментным препаратом при комнатной температуре. Полученная пена имела коэффициент увеличения объёма равный 10. Установлено, что в течение последующих 30 мин высота уровня пены не изменялась и сохранялась достаточная активность фермента. Для сохранения большей активности фермента His₆-ОФГ необходима его стабилизация путём проведения иммобилизации.

В дальнейшем для проверки возможности использования пенных покрытий для деструкции ФОС, было проведено испытание работы фермента His₆-ОФГ в составе пены при ликвидации разлива раствора параоксона на поверхности стройматериалов.

Для этого на два образца кафельной плитки с остатками старой штукатурки (площадью примерно 29–38 см²) было нанесено по 0,2 мл 2,75 г/л водного раствора параоксона (среднее загрязнение 0,14–0,19 г/м²). Затем на образцы наносили пенное покрытие без фермента и пенное покрытие с добавлением фермента His₆-ОФГ, слоем толщиной 2–3 см.

Через 5–10 мин с помощью шпателя освобождали некоторые участки поверхности от пены. В случае использования пены с ферментом His₆-ОФГ на открытых поверхностях кафельной плитки наблюдали окраску пены в жёлтый цвет за счёт образования *p*-нитрофенола – продукта гидролиза параоксона. В случае использования пенного покрытия без фермента такая окраска отсутствовала.

По нашему мнению, пенные покрытия, содержащие фермент, могут быть использованы, кроме обеззараживания поверхностей оборудования и стройматериалов, также и для локализации аварийных проливов, проведения мероприятий по специальной обработке объектов и техники, почвы, вертикальных поверхностей, обмундирования личного состава в условиях химического заражения, в зонах чрезвычайных ситуаций, при утилизации токсичных веществ, вредных для здоровья и окружающей среды.

Заключение

При ликвидации последствий работы объектов по уничтожению химического оружия биотехнологические способы деструкции продуктов детоксикации отравляющих веществ могут быть использованы в следующих направлениях:

- обезвреживание контактировавшего с ОВ оборудования и стройматериалов;

– очистка территорий (ремедиация почвы, и очистка воды), на которых хранилось химическое оружие;

– реабилитационные работы *in situ* или *ex situ* на промплощадках объектов уничтожения химического оружия.

Разработанная дорожная карта представляет собой пошаговый порядок действий экологически безопасного проведения реабилитационных работ с использованием биотехнологических способов.

Литература

1. Капашин В.П., Холстов В.И., Кондратьев В.Б. 20 лет со дня принятия целевой программы «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации» // Теоретическая и прикладная экология. 2016. № 4. С. 6–11.

2. Холстов В.И. Итоги реализации Федеральной целевой программы «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации» в преддверии 2014 года // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 4. С. 6–7.

3. Федеральная целевая программа «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации». Постановление Правительства РФ от 21.03.1996 г. № 305 и от 5.07.2001. № 510.

4. Санитарные правила СП 2.2.1.2513-09 «Гигиенические требования к размещению, проектированию, строительству, эксплуатации и перепрофилированию объектов по уничтожению химического оружия, реконструкции зданий и сооружений и выводу из эксплуатации объектов по хранению химического оружия». 2009.

5. Янковская А.А., Филимонов И.В., Завьялова Н.В., Голипад А.Н., Ковтун В.А., Холстов В.И. Экологически безопасная биоремедиация почвы и очистки воды *in situ* от продуктов деструкции отравляющих веществ // Теоретическая и прикладная экология. 2016. № 4. С. 89–95.

6. Ефременко Е.Н., Лягин И.В., Гудков Д.А., Сироткина М.С., Завьялова Н.В., Варфоломеев С.Д., Холстов В.И. Имобилизованные биокатализаторы на основе органофосфатгидролазы в процессах разложения фосфорорганических отравляющих веществ // Теоретическая и прикладная экология. 2011. № 4. С. 26–31.

7. De Frank J.J., Cheng Tu-Chen, Rolakowsky G.E., Harvey S. Advances in the biodegradation of chemical warfare agents and related materials // Advances in the biodegradation of chemical warfare agents and related materials: Abstr. Keystone symp. Environ. Biotechnol, Lake Tahoe, Calif. Cell. Biochem. 1995. 21 а. P. 41.

8. Завьялова Н.В., Филимонов И.В., Ефременко Е.Н., Холстов В.И., Янковская А.А. Биокатализаторы на основе штаммов микроорганизмов и ферментов, обладающих повышенной способностью к разложению

отравляющих веществ и продуктов их деструкции, в процессе очистки почв и вод // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 4. С. 42–50.

9. Завьялова Н.В., Филимонов И.В., Ефременко Е.Н., Холстов В.И., Янковская А.А. Биотехнологические методы и нейтрализующие средства для обеззараживания почв и очищения вод, загрязнённых экотоксикантами // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 4. С. 25–32.

10. Ефременко Е.Н., Лягин И.В., Гудков Д.А., Степанов Н.А., Сенько О.В., Маслова О.В., Ковалёв Д.А., Завьялова Н.В., Холстов В.И., Янковская А.А. Комбинированное применение ферментативного и бактериального биокатализаторов в процессах биодеструкции ФОВ и продуктов их разложения // Теоретическая и прикладная экология. 2015. № 3. С. 35–39.

11. Funk S.B., Roberts D.J., Crawford D.J. Initial phase optimization for bioremediation of munitions compound-contaminated soils // Appl. Env. Microb. 1992. V. 59. No.7. P. 2171–2177.

12. Kaake R.H., Roberts D.J., Stevens T.O. et al. Bioremediation of soils contaminated with the herbicide 2-secbuty1-4, 6-dinitrophenol (dinoseb) // Appl. Env. Microb. 1990. V. 56. No. 6. P. 1666–1671.

13. Howard J., Fox S. Review of current research projects and innovations in remediation // Gen. Eng. News. 1994. V. 14. No. 17. P. 8–9.

14. Smith J.D. Metabolism of phosphonates // The role of phosphonates in living systems. CRC Press, Boca Raton. 1983. P. 31–54.

15. Small M.J. Compounds formed from the chemical decontamination of HD, GB, and VX and their environmental fate // Tech Rpt 8304; AD A149515. Fort Detrick, MD: U.S. Army Medical Bioengineering Research and Development Laboratory, 1984.

16. Shames S.L., Wackett L.P., LaBarge M.S., Kuczowski R.L., Walsh C.T. Fragmentative and stereochemical isomerisation probes for homolytic carbon to phosphorus bond scission catalysed by bacterial carbon-phosphorus lyase // Bioorg. Chem. 1987. V. 15. P. 366–373.

17. Завьялова Н.В., Филимонов И.В., Ковтун В.А., Голипад А.Н., Петров С.В., Стяжкин К.К., Ефременко Е.Н., Холстов В.И., Янковская А.А. Основные технологические операции и стадии биоремедиации почв и очистки вод *in situ* // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 4. С. 33–40.

18. Lejeune K.E., Russell A.J. Biocatalytic nerve agent detoxification in firefighting foams // Biotechnol. Bioeng. 1999. V. 62 (6). P. 659–665.

19. Efremenko E.N., Sergeeva V.S. Organophosphate hydrolase – an enzyme catalyzing degradation of phosphorus-containing toxins and pesticides // Russian Chemical Bulletin. 2001. V. 50. No 10. P. 1826–1832.

20. Ефременко Е.Н., Лягин И.В., Завьялов В.В., Варфоломеев С.Д., Завьялова Н.В., Холстов В.И. Ферменты в технологии уничтожения фосфорорганических

отравляющих веществ // Российский химический журнал. 2007. № 51 (2). С. 24–29.

References

1. Kapashin V.P., Kholstov V.I., Kondratiev V.B. Results of the federal target program «Destruction of chemical weapons stockpiles in the Russian Federation» on the eve of 2014 // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2016. No. 4. P. 6–11 (in Russian).

2. Kholstov V.I. Result of the federal target programm “Destruction of chemical weapons stockpiles in the Russian Federation on the eve 2014 // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2013. No. 4. P.6–7 (in Russian).

3. Federal Target Program “Destruction of chemical weapons stockpiles in the Russian Federation”. Postanovleniye pravitelstva RF ot 21.03.1996. No. 305 i ot 5.07.2001. No. 510 (in Russian).

4. Sanitary rules SP 2.2.1.2513-09 “Hygienic requirements to location, design, construction, operation, and conversion of chemical weapons destruction plants, reconstruction of buildings and structures and decommissioning storage facilities of chemical weapons. 2009 (in Russian).

5. Yankovskaya A.A., Filimonov I.V., Zavjalova N.V., Golipad A.N., Kovtun V.A. Ecologically safe bioremediation of soil and water purification *in situ* from chemical warfare agents destruction products // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2016. No. 4. P. 89–95 (in Russian).

6. Efremenko E.N., Lyagin I.V., Gudkov D.A., Sirotkina M.S., Zavyalova N.V., Varfolameev S.D., Kholstov V.I. Immobilized biocatalysts on the basis of organophosphorous in the process of decomposition of organophosphorus toxic substances // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2011. No. 4. P. 26–31 (in Russian).

7. De Frank J.J., Cheng Tu-Chen, Rolakowsky G.E., Harvey S. Advances in the biodegradation of chemical warfare agents and related materials // *Abstr. Keystone symp. Environ. Biotechnol. Lake Tahoe, Calif. Biochem.* 1995. 21 a. P. 41.

8. Zavyalova N.V., Filimonov I.V., Efremenko E.N., Kholstov V.I., Yankovskaya A.A. Biocatalysts based on bacteria-destructors and enzymes of differ from high destructive capability chemical warfare agents and their degradation products in process of purification of soils and water // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2014. No. 4. P. 42–50 (in Russian).

9. Zavyalova N.V., Filimonov I.V., Efremenko E.N., Kholstov V.I., Yankovskaya A.A. Biotechnological methods and neutralizing agents for purification of soils and water, which were contaminated by ecotoxic substances //

Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya. 2014. No. 4. P. 25–32 (in Russian).

10. Efremenko E.N., Lyagin I.V., Gudkov D.A., Stepanov N.A., Sen'ko O.V., Maslova O.V., Kovalev D.A., Zavyalova N.V., Kholstov V.I., Yankovskaya A.A. Combined application of enzymatic and bacterial biocatalysts in the processes of biodegradation of organophosphorous chemical warfare agents and products of their destruction // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2015. No. 3. P. 35–39 (in Russian).

11. Funk S.B., Roberts D.J., Crawford D.J. et al. Initial phase optimization for bioremediation of munitions compound-contaminated soils // *Appl. Env. Microb.* 1992. V. 59. No.7. P. 2171–2177.

12. Kaake R.H., Roberts D.J., Stevens T.O. et al. Bioremediation of soils contaminated with the herbicide 2-secbuty1-4, 6-dinitrophenol (dinoseb) // *Appl. Env. Microb.* 1990. V. 56. No. 6. P. 1666–1671.

13. Howard J., Fox S. Review of current research projects and innovations in remediation // *Gen. Eng. News*. 1994. V. 14. No. 17. P. 8–9.

14. Smith J.D. Metabolism of phosphonates // *The role of phosphonates in living systems*. CRC Press, Boca Raton. 1983. P. 31–54.

15. Small M.J. Compounds formed from the chemical decontamination of HD, GB, and VX and their environmental fate // *Tech Rpt 8304; AD A149515*. Fort Detrick, MD: U.S. Army Medical Bioengineering Research and Development Laboratory, 1984.

16. Shames S.L., Wackett L.P., LaBarge M.S., Kuczowski R.L., Walsh C.T. Fragmentative and stereochemical isomerisation probes for homolytic carbon to phosphorus bond scission catalysed by bacterial carbon-phosphorus lyase // *Bioorg. Chem.* 1987. V. 15. P. 366–373.

17. Zavyalova N.V., Filimonov I.V., Kovtun V.A., Golipad A.N., Petrov S.V., Styazhkin K.K., Efremenko E.N., Kholstov V.I., Yankovskaya A.A. The main technological operations and stages of bioremediation of soils and water purification *in situ* // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2014. No. 4. P. 33–40 (in Russian).

18. Lejeune K.E., Russell A.J. Biocatalytic nerve agent detoxification in firefighting foams // *Biotechnol. Bioeng.* 1999. V. 62 (6). P. 659–665.

19. Efremenko E.N., Sergeeva V.S. Organophosphate hydrolase – an enzyme catalyzing degradation of phosphorus-containing toxins and pesticides // *Russian Chemical Bulletin*. 2001. V. 50. No 10. P. 1826–1832.

20. Efremenko E.N., Lyagin I.V., Zavyalov V. V., Varfolameev S.D., Zavyalova N.V., Kholstov V.I. Enzymes in the technology of destruction of organophosphorus toxic substances // *Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal*. 2007. No. 51 (2). P. 24–29 (in Russian).