

ДЕТОКСИКАЦИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ,
ПОЛИАРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ
И ПЕСТИЦИДОВ ГУМУСОВЫМИ
ВЕЩЕСТВАМИ В ВОДАХ И ПОЧВАХ

*Петросян В.С.,
Перминова И.В.,
Ковалевский Д.В.,
Данченко Н.Н.,
Ященко Н.Ю.,
Лебедева Г.Ф.,
Куликова Н.А.,
Филиппова О.И.,
Венедиктов П.С.,
Полынов В.А.,
Бавилин Д.В.*
МГУ им. Ломоносова

Роль гумусовых кислот – основного компонента органического вещества природных вод и почв – в изменении биологической активности (токсичность, биоаккумуляция, биопоглощение) различных химических веществ, загрязняющих окружающую среду, до сих пор мало изучена. По литературным данным гумусовые кислоты обычно снижают токсичность как тяжелых металлов, так и органических соединений (1–5), в то же время в некоторых работах описано противоположное действие гумусовых кислот (6,7). Широкое распространение этих веществ в окружающей среде обуславливает возникновение двух основных проблем:

Во-первых, необходимо разработать принципы количественной оценки влияния гумусовых кислот на биологическую активность основных классов описанных химических загрязнителей, таких как тяжелые металлы, пестициды, нефтяные, полиароматические и хлорированные углеводороды. Нельзя не учитывать тот факт, что биологическая активность химических веществ сильно меняется в природных средах, поэтому модельные эксперименты в среде дистиллированной воды или чистого песка в отсутствие гумусовых веществ не позволяют адекватно предсказывать биологическую активность. Изучение взаимодействия загрязнителей с природным органическим веществом позволит оценить реальную опасность химических токсикантов и создать более обоснованную систему ПДК.

DETOXIFICATION OF HEAVY METALS,
POLYAROMATIC HYDROCARBONS
AND PESTICIDES BY HUMIC SUBSTANCES IN
WATERS AND SOILS

*V.S. Petrosyan,
I.V. Perminova,
D.V. Kovalevskiy,
N.N. Danchenko,
N.Yu. Yashchenko,
G.F. Lebedeva,
N.A. Kulikova,
O.I. Philippova,
P.S. Venediktov,
V.A. Polynov,
D.V. Vavillin.*
Lomonosov University

The role of humic acids – major constituent of organic matter of natural water and soil media – in mediating biological activity (toxicity, bioaccumulation, uptake) of different chemicals released into the environment is still poorly understood. While they are usually prescribed by exposing mitigating impact on the biological activity both of heavy metals and organic chemicals (1–5), the opposite observations are reported as well (6, 7). Given ubiquity and abundance of these substances in the environment, two main problems here can be considered as follows:

– It is necessary to develop principles of quantitative estimation of humic acids impact on biological activity of main classes of harmful chemicals released into the environment (heavy metals, pesticides, petroleum, polyaromatic and chlorinated hydrocarbons). The fact that biological activity of the chemicals changes greatly in natural surroundings and can be hardly approximated by the forecasts of model experiments conducted in distilled water or pure sandy media, can not be skipped any longer. Expanded studies on interactions of the chemicals with natural organic matter – main factor altering biological activity of ecotoxicants in the environment – can improve the existing system of «maximum permissible levels» followed by much more realistic predictions of danger from the released chemicals.

Во-вторых, на базе доказанного детоксицирующего эффекта гумусовых кислот и специфической активности по отношению к отдельным классам загрязнителей, зависящей от типа торфа, можно разработать научнообоснованные рекомендации по использованию торфов и других богатых гумусом материалов в качестве детоксикантов для водной и почвенной среды. Существование больших запасов природных источников гумусовых веществ, таких как торф и сапропель (озерные донные осадки) с одной стороны и развитого производства удобрений и биостимуляторов на основе гумуса с другой стороны, делает данную проблему практически значимой. Кроме того, информация о «сродстве» охарактеризованных торфяных гумусовых кислот к определенному классу соединений может быть использована для дальнейших исследований по направленному синтезу специфических детоксицирующих агентов на основе торфяного гумуса.

Принимая во внимание вышесказанное, мы полагаем, что представленные ниже результаты экспериментальных исследований можно считать первым шагом к решению данных проблем.

В настоящей работе изучалась способность различных гумусосодержащих материалов снижать биологическую активность таких экотоксикантов как тяжелые металлы, полиароматические углеводороды (ПАУ) и пестициды. Эксперименты с тяжелыми металлами и ПАУ проводились в водной, а с пестицидами – в почвенной среде.

Для экспериментов в водной среде использовались выделенные и очищенные образцы речных, морских, почвенных и торфяных гумусовых кислот. Как известно, в природных водоемах гумусовые вещества составляют от 60 до 90% от общего количества растворенного органического вещества (8).

Токсичность трех опасных для водных экосистем тяжелых металлов – кадмия, меди и свинца – регистрировалась в присутствии перечисленных выше гумусовых кислот различного происхождения. В качестве тест-объекта использовали культуру зеленой водоросли *Chlorella Vulgaris*, а в каче-

– The other aspect of the problem under consideration, which can bring investigations on potential detoxifying properties of humic acids directly in the field of practical agricultural research – is related to the existence of large natural resources of humic substances – such as peat and sapropel (lake bottom sediments) and, besides, quite good developed industry of both humic fertilizers and biostimulators production. Under conditions of proved detoxifying impact of peat humic acids and, moreover, known specific activity to certain chemicals depending on the kind of peat they were extracted from, motivated use of peat and other humics-enriched materials as detoxicants for water and soil media can be developed. Besides, information about «affinity» between characterized peat humic acids and certain kind of chemicals can be used for the follow-up research on directed synthesis of specific detoxifying agents on the basis of peat humics.

Having in mind the given considerations, we believe that the presented below experimental results can serve us as an initial step in approaching the discussed field.

In the presented research different humics containing materials were checked on their ability to mediate biological activity of such ecotoxicants as heavy metals, polyaromatic hydrocarbons (PAHs) and pesticides. Experiments with heavy metals and PAHs were conducted in aqueous media with pesticides – in soil media.

Purified isolated samples of riverine, marine soil and peat humic acids were used for the experiments in aqueous media, where in natural conditions these substances comprise from 60 up to 90 % of the total dissolved organic matter (8).

The toxicities of three dangerous for water ecosystems heavy metals – cadmium, copper and lead – were registered in the presence of listed above humic acids of different origin. As a biotarget was used green algae *Chlorella vulgaris*, as a test-function – photosynthetic activity, determined by the fluorimetric method.

тест-функции – фотосинтетическую активность, определенную флуориметрическим методом.

Влияние речных ГК на токсичность ПАУ исследовалось на примере флуорантена и фенинтрена. В качестве тест-объекта использовались *Chlorella Vulgaris* и представитель ракообразных – *Daphnia Magna*; в качестве тест функции – фотосинтетическая и пищевая активность для *Chl. Vulgaris* и *D. Magna*, соответственно. Пищевая активность регистрировалась по изменению фотосинтетической активности водоросли, которая служила пищей для рачков.

Для почвенной среды использовались содержащие гумус природные материалы (торф и сапропель), а так же производимые промышленностью торфяные гидролизаты (гидрогумат и оксигумат), используемые в качестве биостимуляторов. Исследовалось влияние указанных материалов на токсичность современного пестицида Глин, относящегося к классу сульфонилмочевин. В качестве тест-объекта была выбрана кукуруза; биологический отклик регистрировали сравнением биомассы растений, выращенных на содержащей пестицид почве в присутствии гумусосодержащих материалов и без них.

Для оценки детоксицирующей способности изученных гумусовых веществ нами был введен параметр «процент детоксикации», который рассчитывался по следующей формуле:

$$D = 1 - \frac{R_o(R_d - R_t + t)}{R_d(R_o - R_t)} \cdot 100\%$$

где

D – процент детоксикации;

R – биологический отклик (для водоросли – фотосинтетическая активность, для рачков – пищевая активность, для кукурузы – сухая биомасса);

R_o – биологический отклик в контрольных экспериментах – тестируемая среда как без токсиканта, так и без детоксиканта;

R_d – биологический отклик в присутствии детоксиканта;

R_t – биологический отклик в присутствии токсиканта;

R_{d+t} – биологический отклик в присутствии как токсиканта, так и детоксиканта.

The influence of riverine HA on PAHs toxicities was tested for fluoranthene and phenanthrene. As a biotarget was used *Chlorella vulgaris* and aquatic crustacean *Daphnia magna*, as a test function – photosynthetic and grazing activities for *Chlorella* and *D. magna* respectively. Grazing activity was determined by measurement of photosynthetic activity of algae – a food for *D. magna*.

For the soil media, different humic acids containing materials of natural (peat, sapropel) as well as artificial (hydrohumate and oxyhumate – peat hydrolysates, commercially available biostimulators) origin were used for the experiments aimed to elucidate impact of these materials on the toxicity of modern super pesticide Glean – representative of sulfonylureas. As a biotarget was chosen corn, the biological response was registered by comparing biomasses of the plants grown on contaminated soil in the presence of humics-enriched materials and without them.

For the estimation of detoxifying ability of the tested humic substances we introduced a parameter «percentage of detoxification», which was calculated by the developed formula:

$$D = 1 - \frac{R_o(R_d - R_t + t)}{R_d(R_o - R_t)} \cdot 100\%$$

where

D – per cent of detoxification;

R – biological response, for green algae – photosynthetic activity, for *D. magna* – grazing activity, for corn plants – dry biomass;

R_o – biological response registered in the control experiments – tested medium without either toxicant (heavy metals, PAHs or Glean) or detoxicant (humics materials);

R_d – biological response in the presence of detoxicant;

R_t – biological response in the presence of toxicant;

R_{d+t} – biological response in the presence of both detoxicant and toxicant in the same tested medium.

Данная формула позволяет вычленить только детоксицирующий эффект, поскольку эффект удобрения почв гумусосодержащими материалами при таком способе расчета исключается.

Результаты проведенных экспериментов приведены на рис.1-4.

Как видно из результатов экспериментов, проведенных в водной среде, содержащей тяжелые металлы (рис.1), в присутствии гумусовых кислот токсический эффект на водоросль значительно снижается. Эта основная тенденция наблюдается для всех четырех типов исследованных гумусовых кислот. Однако, следует отметить, что морские гумусовые кислоты оказывают гораздо более слабое детоксицирующее действие как на медь так и на кадмий,

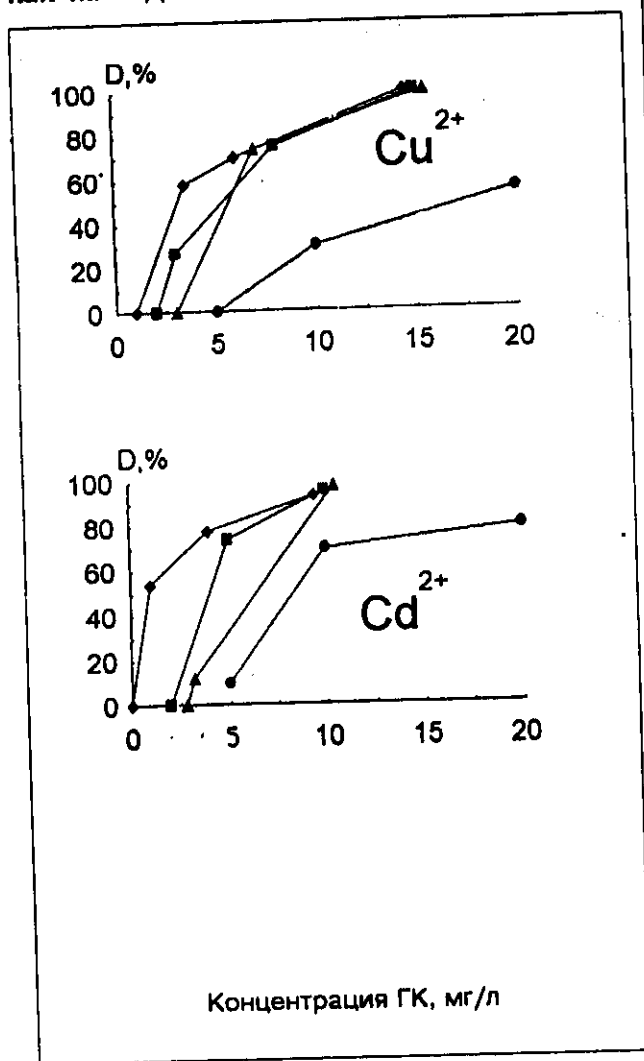


РИСУНОК 1. Концентрационная зависимость детоксицирующего эффекта гумусовых кислот (ГК) различного происхождения по отношению к тяжелым металлам (эксперименты с *Chlorella Vulgaris*).

Use of the given formula allows to evaluate a pure detoxification effect, - effect of additional fertilization caused by inducing of humic materials into the tested media is eliminated by the given technique of calculation.

Results of the conducted experiments are presented in Fig.1-4.

As can be seen from the results of the experiments conducted in aqueous media contaminated with heavy metals (Fig.1), in the presence of humic acids the toxic impact on algae is greatly reduced. This general trend is valid for all four kinds of humic acids tested. However, while the detoxification efficiencies of peat, soil and riverine humic acids are very close one to another, marine humic acids stand out of this series, exposing much weaker detoxification impact on Cu, as well as Cd. This can be explained by the structural peculiarities of marine humic acids, which are characterized by the predominance of aliphatic structural units (9), followed by the reduction in chelating ability of these substances in comparison with such highly aromatic structures as peat, soil or fresh water.

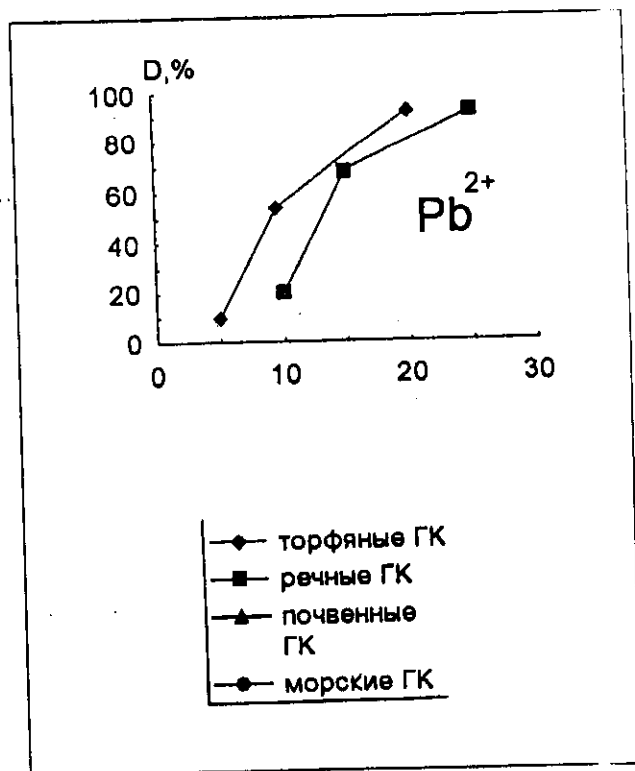


FIG.1. Concentration dependencies of detoxification effects of humic acids (HA) on heavy metals in relation to *Chlorella vulgaris*.

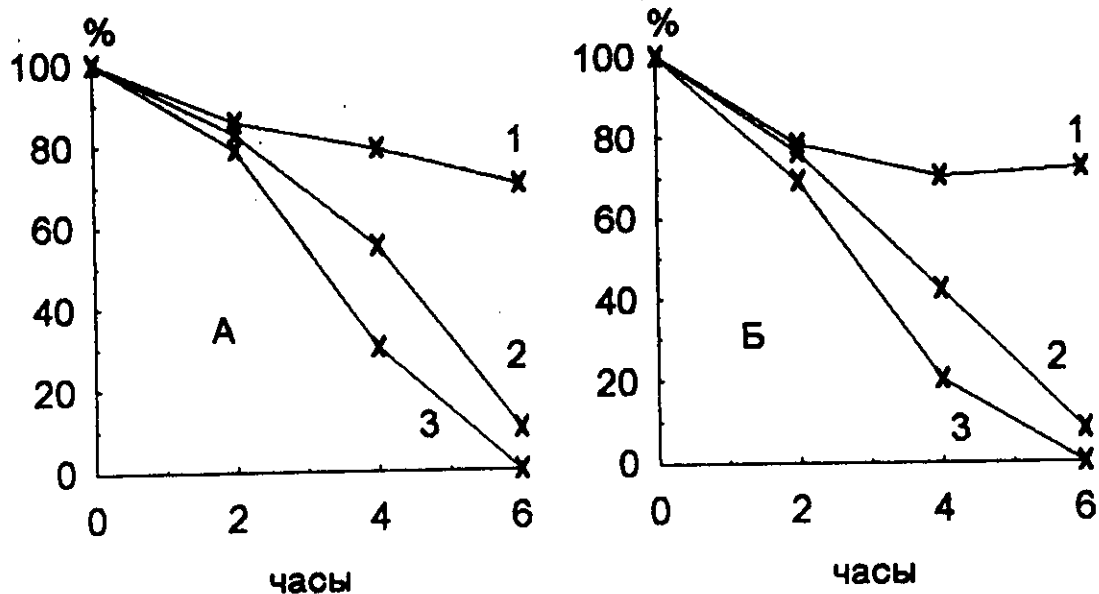


РИСУНОК 2. Подавление фотосинтетической активности хлореллы (в % от контроля) флуорантеном (0.7 мг/л) в зависимости от концентрации гумуса: 1 - 100 мг/л; 2 - 10 мг/л; 3 - 0 мг/л. Время предварительной выдержки флуорантена в растворе с гумусом: А - 12 часов; Б - 96 часов.

FIG. 2. Photosynthetic activity of *Chlorella vulgaris* (% of the control culture's one) in the presence of fluoranthene (0.7 mg/l) versus concentration of riverine HA in the cultivation medium (mg/l): 1- 100, 2 - 10, 3 - 0. Contact time for fluoranthene and HA before bringing in the algae: A - 12h, B - 96h.

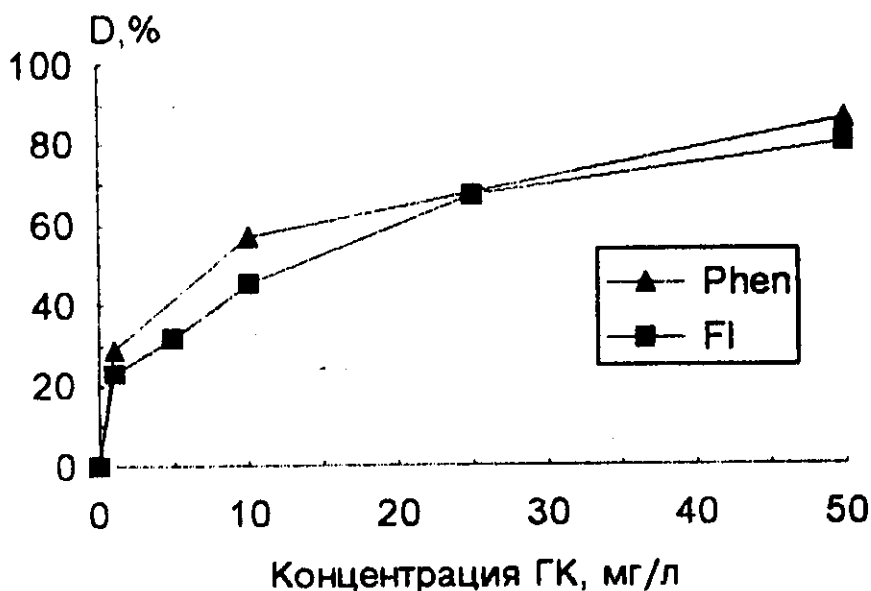


РИСУНОК 3. Детоксикация ПАУ по отношению к *Daphnia magna* речными гумусовыми кислотами. Phen - фенантрен, 0.5 мг/л; Fl - флуорантен, 0.13 мг/л.

FIG.3. Detoxification of PAHs by riverine HA in relation to *Daphnia magna*. Phen - phenanthren, 0.5 mg/l; Fl - fluoranthene, 0.13 mg/l.

тогда как эффективность детоксикации торфяных, почвенных и речных гумусовых кислот близка. Этот факт можно объяснить структурными особенностями морских гумусовых кислот, которые характеризуются преобладанием алифатических структурных фрагментов (9), что приводит к снижению хелатирующей способности этих веществ по сравнению с высокоароматичными структу-

humics. The conclusion which can be drawn from these results is that marine environment can be considered as much more vulnerable to the toxic impact of heavy metal contamination than fresh water or soil ecosystems. It means, that at the same level of pollution the ecological consequences for marine environment can be much more severe. This fact demonstrates that existence of the

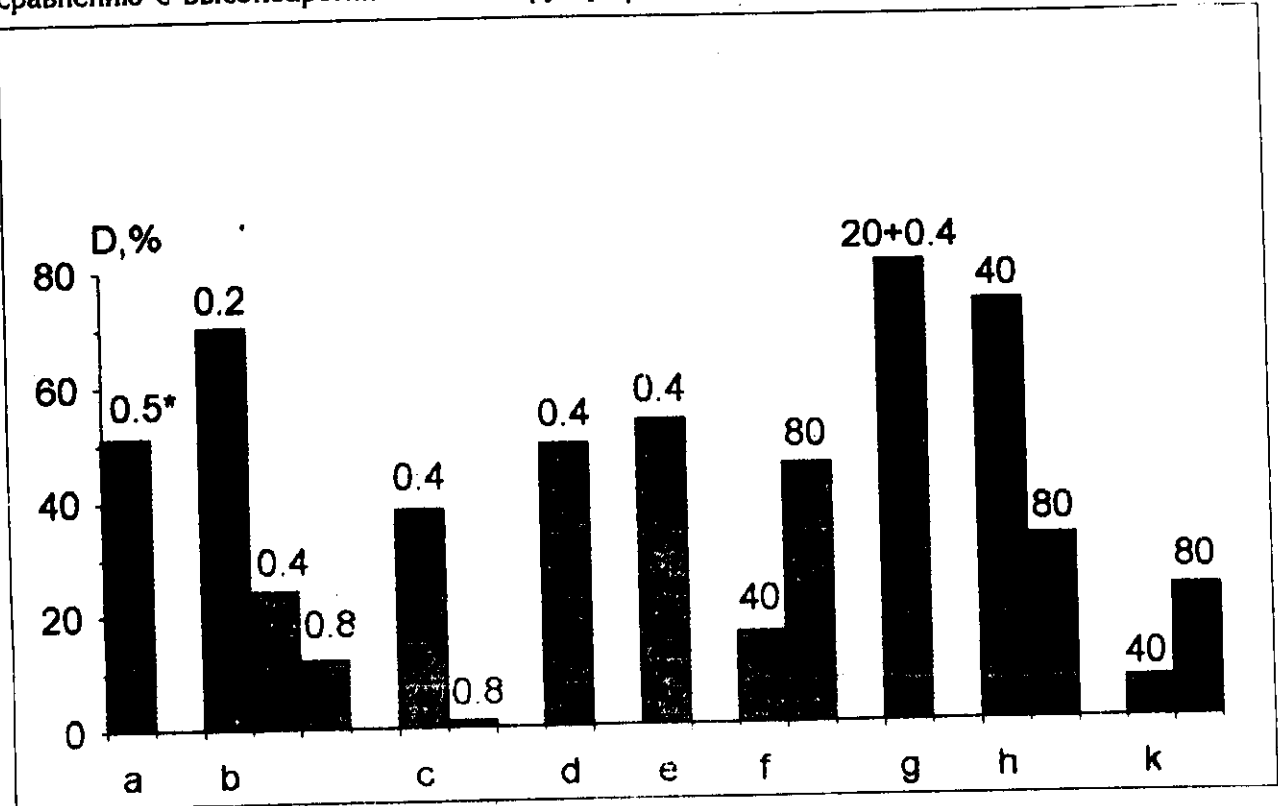


РИСУНОК 4. Детоксицирующий эффект различных гумусосодержащих материалов по отношению к гербициду Глин.

- a - активированный уголь;
- b - оксигумат;
- c - гидрогумат;
- d - опрыскивание оксигуматом;
- e - опрыскивание гидрогуматом;
- f - сапропель;
- g - сапропель + гидрогумат;
- h - торф No3; k - торф No10.

*Числа над колонками обозначают дозы детоксиканта (т/Га).

рами гумуса торфа, почвы и пресных вод. На основе полученных результатов, можно предположить, что морская среда более уязвима к токсическому действию тяжелых металлов чем пресные воды и почвенные экосистемы. Это означает, что при том же уровне загрязнения экологические послед-

FIG.4. Detoxification effect of different humics-counteracting materials on pesticide Glean

- a - activated charcoal;
- b - oxyhumate;
- c - hydrohumate;
- d - oxyhumate by sprinkling;
- e - hydrohumate by sprinkling;
- f - sapropel;
- g - sapropel + hydrohumate;
- h - peat No3;
- k - peat No10

*Numbers above the columns mean the dose of detoxicant, tons per hectare.

same maximum permissible levels of heavy metals for fresh water and marine ecosystems is illogical in terms of real danger which these contaminants exposed to the environment.

Results of experiments with PAHs in aquatic media (Fig. 2,3) indicated that HA caused 50% detoxification impact on PAHs in rela-

ствия для морской среды могут быть гораздо более тяжелыми. Следовательно, существование одинаковых предельно допустимых концентраций тяжелых металлов для пресноводных и морских экосистем неоснованно с точки зрения реальной опасности данных загрязнителей для определенной природной среды.

Результаты токсикологических экспериментов с ПАУ (рис. 2,3) показали что при концентрациях 10–50 мг/л, характерных для речных вод, гумусовые кислоты оказывают 50% детоксицирующее действие. Следовательно, ГК являются достаточно эффективными детоксикантами для ПАУ в водной среде.

Результаты токсикологических экспериментов в почвенной среде (рис.4) показывают, что все исследованные гумусосодержащие материалы в большей или меньшей степени обладают детоксицирующей способностью по отношению к пестициду Глин, причем их активность сравнима либо больше чем у активированного угля – достаточно эффективного агромелиоранта (10). Однако, разброс результатов существенно больше, чем для экспериментов в водной среде, что можно объяснить значительным влиянием негумусовых компонентов данных материалов. Тем не менее, можно сделать вывод, что гумусосодержа-

tion to D. magna under concentration range 10 – 50 mg/l which is characteristic for natural waters. Therefore HA are effective detoxicants of PAHs in waters.

Results of toxicological experiments in soil media (Fig.4) also showed that all of the tested humic-enriched materials to bigger or less extent possessed detoxification abilities in relation to pesticide Glean, which was on the same level or higher than that of activated charcoal – quite efficient agricultural meliorant (10). However, the results are much more scattered than for the discussed above set of the experiments, apparently reflecting influence of not only humic component of these materials but of the other factors as well.

Nonetheless, the conclusion can be made, that humic-containing materials can be used as effective detoxicants for agricultural needs, but the extended research is in need on the selectivity and efficiency of their action on the different groups of the contaminants.

щие материалы могут быть использованы в качестве эффективных детоксикантов в сельском хозяйстве. Для более конкретных рекомендаций необходимы расширенные исследования селективности и эффективности их действия на различные группы загрязнителей.

ЛИТЕРАТУРА

1. McCarthy, J.F., B.D. Jimenez, T. Barbee. (1985). Effect of dissolved humic material on accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons: structure-activity relationships. *Aquat. Toxicol.* 7, 15–24.

2. Oris, J.T., T. Hall, J.D. Tylka. (1990). Humic acids reduce the photo-induced toxicity of anthracene to fish and daphnia. *Environ. Toxicol. Chem.* 9, 575–583.

3. Servos, M.R., D.C.J. Muir. (1989). Effect of dissolved organic matter from Canadian Shield lakes on the bioavailability of 1,3,6,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin to the Amphipod *Crangonyx Laurentianus*. *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 141–150.

REFERENCES

1. McCarthy, J.F., B.D. Jimenez, T. Barbee. (1985). Effect of dissolved humic material on accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons: structure-activity relationships. *Aquat. Toxicol.* 7, 15–24.

2. Oris, J.T., T. Hall, J.D. Tylka. (1990). Humic acids reduce the photo-induced toxicity of anthracene to fish and daphnia. *Environ. Toxicol. Chem.* 9, 575–583.

3. Servos, M.R., D.C.J. Muir. (1989). Effect of dissolved organic matter from Canadian Shield lakes on the bioavailability of 1,3,6,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin to the Amphipod *Crangonyx Laurentianus*. *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 141–150.

4. Stackhouse, R.A., W.H. Benson. (1989). Interaction of humic acids with selected trace metals: influence on bioaccumulation in daphnids. *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 639-644.

5. Day, K.E. (1991). Effects of dissolved organic carbon on accumulation and acute toxicity of fenvalerate, deltamethrin and cyhalothrin to *Daphnia magna* (straus). *Environ. Toxicol. Chem.* 10, 91-101.

6. Oikari, A. J. Kukkonen, V. Virtanen. (1992). Acute toxicity of chemical to *Daphnia magna* in humic waters. *Sci. Total Environ.* 117/118, 367-377.

7. Stewart, A.J. (1984). In: K.E. Cowser (Ed.), *Synthetic Fossil Fuel Technologies*, Butterworth Publ., Boston, 505-521.

8. Aiken, G.R., D.M. McKnight, R.L. Wershaw, P. McCarthy (Eds.) (1985). *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water: Geochemistry, Isolation and Characterization*. Wiley- Interscience, N.Y.

9. Plotrowicz, S.R., G.R. Harvey, D.A. Boran, C.P. Weisel, and M. Springer-Yng, (1984). Cadmium, copper, and zinc interactions with marine humus as a function of ligand structure. *Mar. Chem.*, 14, 333-346.

10. Лебедева Г.Ф., Пильщикова Н.А., Агапов В.И., (1991). Использование активированного угля для защиты чувствительных культур от действия гербицидов. *Вестник МГУ, Серия Почвоведение*, 1, 73-77.

4. Stackhouse, R.A., W.H. Benson. (1989). Interaction of humic acids with selected trace metals: influence on bioaccumulation in daphnids. *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 639-644.

5. Day, K.E. (1991). Effects of dissolved organic carbon on accumulation and acute toxicity of fenvalerate, deltamethrin and cyhalothrin to *Daphnia magna* (straus). *Environ. Toxicol. Chem.* 10, 91-101.

6. Oikari, A. J. Kukkonen, V. Virtanen. (1992). Acute toxicity of chemical to *Daphnia magna* in humic waters. *Sci. Total Environ.* 117/118, 367-377.

7. Stewart, A.J. (1984). In: K.E. Cowser (Ed.), *Synthetic Fossil Fuel Technologies*, Butterworth Publ., Boston, 505-521.

8. Aiken, G.R., D.M. McKnight, R.L. Wershaw, P. McCarthy (Eds.) (1985). *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water: Geochemistry, Isolation and Characterization*. Wiley- Interscience, N.Y.

9. Plotrowicz, S.R., G.R. Harvey, D.A. Boran, C.P. Weisel, and M. Springer-Yng, (1984). Cadmium, copper, and zinc interactions with marine humus as a function of ligand structure. *Mar. Chem.*, 14, 333-346.

10. Lebedeva G.F., N.A. Pilschikova, V.I. Agapov, (1991). Use of activated charcoal for the protection of susceptible crops from the pesticides action. *Vestnik MGU, Soil Sciences Series*, 1, 73-77.