

УДК 582.29:543.42

## ЛИХЕНОИНДИКАЦИЯ АЭРОТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ ФУРЬЕ-ИК СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА И ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЛОЕВИЦ *HYROGYMNA PHYSODES*\*

А.Ф. Мейсурова, С.Д. Хижняк, П.М. Пахомов

Тверской государственной университет

Проведена оценка атмосферного загрязнения с помощью ИК спектрального анализа химического состава слоевищ *Hyrogymnia physodes*, трансплантированных в районе Калининской АЭС. Выявлены основные газообразные экотоксиканты в окрестностях атомной станции и изучен характер их распространения. Определены факторы, влияющие на скорость накопления поллютантов слоевищами *H. physodes*.

Ключевые слова: *Hyrogymnia physodes*; Фурье-ИК спектроскопия; сернистый газ; поллютант; экотоксикант; индикация; трансплантация.

**Введение.** Использование ИК спектрального анализа для оценки состояния атмосферы позволяет организовать эффективные мониторинговые наблюдения [3; 6]. Это направление синтезирует достоинства разных подходов к анализу состояния окружающей среды (лихеноиндикационного и спектроскопического), позволяет одновременно определять спектр экотоксикантов атмосферы, доминирующие загрязнители, их относительные концентрации, а также оценивать характер воздействия экотоксикантов на биологические системы [11; 17]. Однако применение ИК спектрального анализа слоевищ лишайников в урбоэкосистемах не всегда возможно в связи с отсутствием лишайников на территории промышленных объектов и в районе городской застройки. Мониторинг воздушного загрязнения с помощью лишайников становится возможным благодаря трансплантации слоевищ индифферентных видов лишайников из фоновых зон в районы их отсутствия [6]. Особое значение имеет биомониторинг в районах расположения атомных электростанций. Как правило, они приурочены к крупным населенным пунктам, на территории которых есть урбоэкосистемы и разные объекты, являющиеся источниками поллютантов.

В качестве модельной территории нами выбрана Калининская атомная электростанция. Традиционная схема биомониторинга дополнена ИК спектральными исследованиями [6].

Цель работы — лихеноиндикация аэротехногенного загрязнения посредством Фурье-ИК спектрального анализа слоевищ *Hyrogymnia*

\* Работа выполнена при поддержке Гранта Президента РФ №02.120.11.1385-МК от 28.06.2010.



*physodes* (L.) Nyl., трансплантированных в районе Калининской АЭС.

**Материал и методика.** В качестве индикаторного вида выбран индифферентный вид *H. physodes*, который обладает высокой чувствительностью к широкому спектру поллютантов [2; 4; 7]. В районе Калининской АЭС в радиусе 10 км выбраны пункты трансплантации, находящиеся на разном удалении от станции (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика пунктов трансплантации

№ пункта*	Расстояние от АЭС, км	Форофит
2	0,2	Виргинильный экземпляр <i>Betula pubescens</i> , расположенный в 100м от градирен.
3	0,5	Средневозрастной генеративный экземпляр <i>Pinus sylvestris</i> , вдоль дороги
4	1,9	Средневозрастной генеративный экземпляр <i>Betula pubescens</i> , высота от комля 1,3 м.
5	5,0	Средневозрастной генеративный экземпляр <i>Pinus sylvestris</i> растущий в лесопарке
6	10,0	Средневозрастной генеративный экземпляр <i>Pinus sylvestris</i> растущий в лесопарке

*Примечание.* \* номера пунктов наблюдений соответствуют номерам образцов лишайников.

Трансплантацию лишайника *H. physodes* осуществляли в пяти точках — на территории Калининской АЭС и за ее пределами на расстоянии 0,2, 1,9, 5,0 и 10 км (табл. 1). Для этого предварительно образцы лишайника *H. physodes* собрали в относительно чистой экологической зоне (фоновой) [10], которая была расположена в окрестностях дер. Ферязкино (Калининский р-н, Тверской обл.). В этом пункте источники загрязнения атмосферы не выявлены. Отмечен высокий уровень биоразнообразия эпифитной лишенофлоры. По данным лишеноиндикационной оценки  $IP=3,2$  [10]. Со стволов деревьев снимали кусочки коры (толщина 2–3 см) с растущей на ней *H. physodes*. После сбора материал хранили в бумажных конвертах в проветриваемом помещении при комнатной температуре в течение недели. Затем кусочки коры с лишайниками с помощью скотча приклеивали к стволам деревьев на высоте 1,3 от основания ствола в районе АЭС.

Перед трансплантацией был получен контрольный спектр образца 1 из фоновой зоны. ИК спектры образцов 2–6, трансплантированные в районе АЭС были получены спустя год. Для записи ИК спектров использовали метод приготовления таблеток с бромидом калия (KBr) [9]. ИК спектры образцов снимали на Фурье-ИК спектрометре «Equinox 55» фирмы «Bruker».



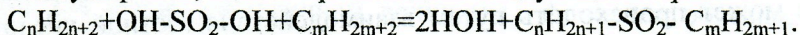
Количественный спектральный анализ провели с помощью программы OPUS-NT, которая позволяет рассчитать оптическую плотность анализируемой полосы ( $D_v$ ). С целью исключения влияния толщины образца на количественные результаты расчетов, оптическую плотность анализируемой полосы ( $D_v$ ) относили к величине оптической плотности полосы стандарта ( $D_c$ ) —  $D_v/D_c$ . В качестве полосы стандарта выбрали полосу поглощения на частоте  $2925 \text{ см}^{-1}$ , которая характеризует валентные колебания в образце  $\nu$  ( $-\text{CH}_2-$ ) и является структурно-нечувствительной. В наших опытах по воздействию на лишайник кислотных поллютантов было установлено, что интенсивность данной полосы не изменяется [4; 7]. Отношение  $D_v/D_{2925}$  дает представление об относительной концентрации исследуемых химических групп и ее изменении в процессе антропогенного воздействия.

При интерпретации ИК спектров образцов лишайника ориентировались на основные руководства [14–16] (табл. 2). Характер отнесения некоторых полос уточнялся в ходе сопоставления полученного материала с экспериментальными сведениями [2; 4; 5; 7]. В связи с тем, что в экспериментах было установлено токсичное влияние на лишайник низких концентраций паров серной кислоты (длительное воздействие) и высоких концентраций паров азотной кислоты (кратковременное воздействие), спектры образцов 2–6 сопоставляли со спектрами образцов 7–8, выдержанными в парах 6% серной и 16% азотной кислоты.

#### **Результаты и обсуждение.**

**Качественный ИК спектральный анализ.** ИК спектральный анализ образцов лишайников 2–6 трансплантированных в течение года в районе Калининской АЭС, показал химические изменения слоевища в результате поглощения экотоксикантов. Наиболее существенны изменения в ИК спектрах образцов 2–4 – появляются новые полосы поглощения на частотах  $1313 \text{ в}_a$  ( $\text{SO}_2$ ),  $782$ ,  $666$  и  $517 \text{ см}^{-1}$   $\nu$  ( $\text{S-O-C}$ ). Данные изменения связаны с образованием в слоевище сульфонов ( $-\text{SO}_2\text{R}$ ), в результате поглощения из приземного слоя атмосферы сернистого газа, к которому очень чувствителен наш тест-объект.

Утверждение об образовании в образцах 2–4 сульфонов ( $-\text{R-SO}_2\text{R}$ ) основывается не только на литературных данных [15], но и на результатах экспериментов по воздействию на лишайник паров разбавленной серной кислоты [4]. Сравнение ИК спектров образцов *H. physodes* из района Калининской АЭС со спектром образца, выдержанного в парах 6% серной кислоты показало их соответствие (рис. 1). Образование в слоевище лишайника сульфонов, может происходить следующим образом:



Как показывают модельные эксперименты, сульфоны токсичны для лишайникового слоевища и представляют серьезную опасность для его нормального функционирования. Сульфоны в лишайниковом слоевище образуются в результате длительного воздействия малых концентраций сернистого газа. В этой связи можно прогнозировать, что трансплантация



образцов 2–4 в районе Калининской АЭС на более длительный период неминуемо приведет к разбалансировке тонких симбиотических взаимоотношений, глубокому нарушению физиологии, и как следствие, к его угнетению. Сопоставление других спектров образцов (5–6) со спектром фонового образца не выявило изменений связанных с образованием сульфонов (рис. 2).

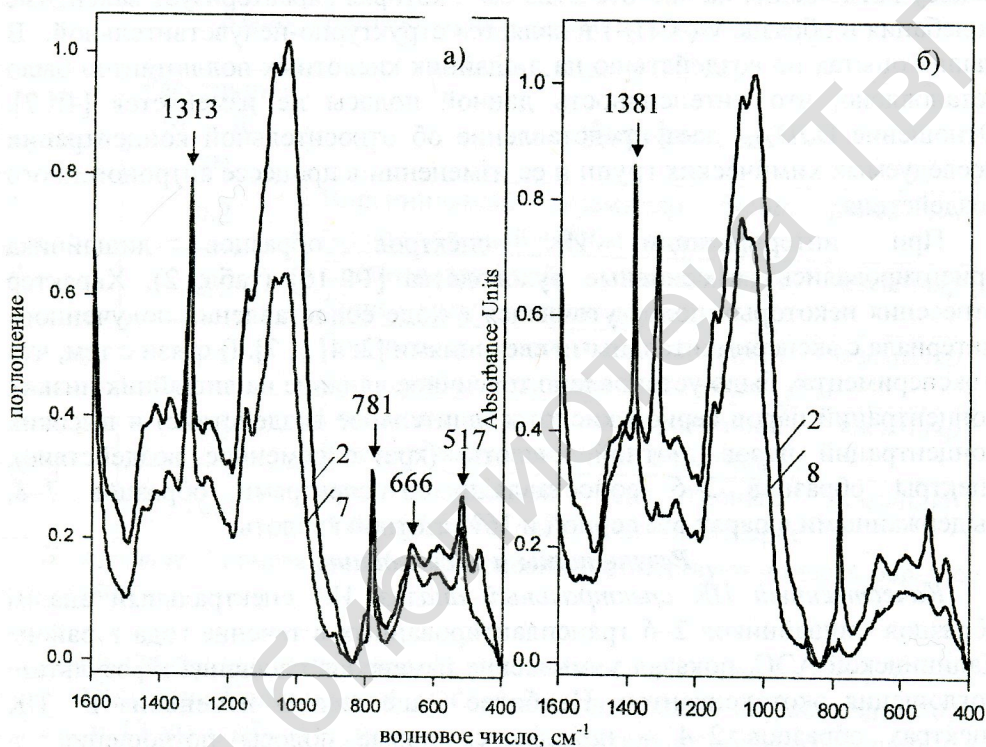
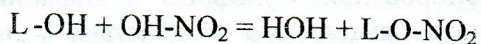


Рис. 1. ИК спектры образцов *Hypogymnia physodes*, трансплантированных на территории Калининской АЭС (2) и выдержанных в парах серной (7) и азотной (8) кислот

Кроме присутствия в приземном слое атмосферы сернистого газа, спектры образцов 2–6 регистрируют наличие в воздухе следов окислов азота. В спектрах обнаружены незначительные изменения на частоте  $1381\text{ см}^{-1}$   $\nu_s(-O-NO_2)$ , связанные с образованием в лишайниковом слоевище алкилнитратов. Сравнение ИК спектров образцов 2–6 со спектром образца, выдержанного в парах 16% азотной кислоты подтверждает правильность наших предположений (рис. 1). Образование нитратов в лишайниковом слоевище может происходить путем взаимодействия азотной кислоты со свободными гидроксильными группами лишайнана (L), характерного компонента грибных гиф:





В спектрах образцов 2–6 трансплантированных в районе Калининской АЭС не выявлено изменений связанных с поглощением радиоактивных изотопов инертных газов, попадающих в атмосферу в виде газоаэрозольных элементов.

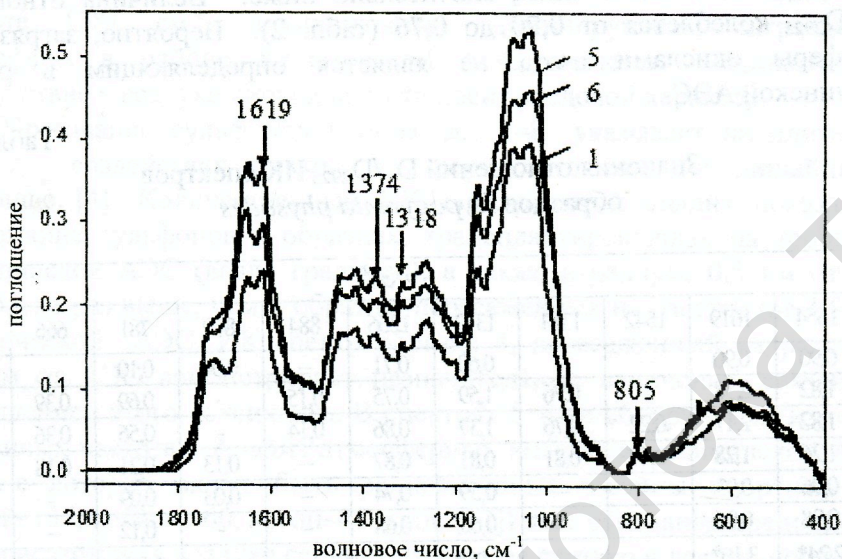


Рис. 2. ИК спектры образцов *Hypogymnia physodes* из фоновой зоны и трансплантированных в окрестностях Калининской АЭС: 1 — фоновая зона; 5 — 5 км от АЭС; 6 — 10 км от АЭС

**Количественный ИК спектральный анализ.** Расчет отношения оптической плотности полос поглощения ( $D_v$ ), связанных с усвоением загрязнителей атмосферы лишайником (диоксида азота и серы) к оптической плотности полосы стандарта ( $D_v/D_{2925}$ ) позволили определить относительные концентрации исследуемых химических групп и их изменения в процессе антропогенного воздействия.

Расчет отношений для полос поглощения 1313, 781, 666 и 517 см<sup>-1</sup> показал, что значительное содержание сульфонов присутствует в образце, пересаженном на *Betula pubescens* возле градири Калининской АЭС (табл. 2), а самое низкое — размещенном на расстоянии 1,9 км от АЭС. Величины отношений  $D_{1313}/D_{2925}$ ,  $D_{781}/D_{2925}$ ,  $D_{666}/D_{2925}$  и  $D_{517}/D_{2925}$  закономерно уменьшаются по мере удаления мест трансплантации образцов от АЭС. Увеличение значения  $D_{1619}/D_{2925}$  — указывает на начало деструкционных процессов в лишайниковом слоевище, при отсутствии видимых морфологических изменений. Величина этого отношения в ИК спектрах образцов 2–4 выше аналогичной величины фонового образца, однако, ниже, чем в ИК спектре образца 7, выдержанного в парах серной кислоты (табл. 2). В модельных экспериментах по воздействию на лишайник паров серной кислоты химическая деструкция слоевища, сопровождаемая видимыми морфологическими изменениями (изменение окраски, побледнение) была зафиксирована для величин  $D_{1619}/D_{2925}=3,1$  [4]. Значение



$D_{1619}/D_{2925}$  в ИК спектрах 2–3, составляющая 2,38 и 2,17 сигнализирует о скором проявлении видимых морфологических изменений.

ИК спектральный анализ образца 2-6 показал, что содержание алкилнитратов в лишайниках значительно ниже. Величина отношения  $D_{1381}/D_{2925}$  колеблется от 0,70 до 0,76 (табл. 2). Вероятно, загрязнение атмосферы окислами азота не является определяющим в районе Калининской АЭС.

Таблица 2

Значения отношений  $D_{\nu}/D_{2925}$  ИК спектров образцов *Hypogymnia physodes*

№	$\nu, \text{см}^{-1}$										
	1654	1619	1542	1381	1313	1266	884	879	781	666	517
1	0,90	0,90	—	—	0,60	0,71	—	0,04	0,10	—	—
2	1,82	2,38	—	0,76	1,59	0,75	0,15	—	0,69	0,39	0,50
3	1,82	2,17	0,22	0,76	1,37	0,86	0,14	—	0,56	0,36	0,49
4	1,26	1,28	0,47	0,81	0,81	0,87	—	0,13	0,21	0,18	0,35
5	0,96	0,93	—	—	0,59	0,74	—	0,03	0,09	—	—
6	0,98	0,96	—	—	0,63	0,68	—	—	0,12	—	—
7	2,24*	3,10*	—	—	1,93*	—	—	—	0,75*	0,41*	0,53*
8	1,44*	1,44*	0,50*	3,10*	0,65*	1,01*	—	0,15*	0,15*	—	—

Примечание. \* сопряжены с изменением окраски слоевища (пожелтение); «—» — отсутствие полос поглощения в ИК спектрах.

Наряду с вышеописанными изменениями в ИК спектрах образцов 2–4 отмечены изменения в содержании белков – Амид I, Амид II и Амид III. Наиболее существенными являются изменения на частоте  $1654 \text{ см}^{-1} \nu(\text{C}=\text{O})$  в спектрах образцов 2–3. Величина отношения  $D_{1654}/D_{2925}$  в них выше фонового значения в два раза, 1,85 и 1,82 соответственно. Увеличение интенсивности полосы поглощения Амид I, можно объяснить тем, что на свету  $\text{HSO}_3^-$  в органоидах (хлоропласте) может превращаться в органически связанные группы  $\text{SH}^-$ , который являются строительным компонентом аминокислот [1]. Причиной количественных изменений аминокислотного состава белков, вызванных накоплением лишайником окислов азота, может быть лизин, аргенин, аспарагин и изолейцин. По-видимому, в какой-то степени первоначально токсическое действие сернистого газа может оказаться полезным. Однако полезным такое действие может быть только первоначально. Относительно низкая интенсивность полос поглощения на частотах  $1654 \nu(\text{C}=\text{O})$ ,  $1542 \nu(\text{O}-\text{C}-\text{N})$  и  $1266 \text{ см}^{-1} \delta(\text{N}-\text{H})$  в ИК спектрах по сравнению с интенсивностью других анализируемых полос, можно объяснить тем, что белков в лишайниках мало — около 3,5 %.

Таким образом, лишеноиндикация аэротехногенного загрязнения посредством Фурье-ИК спектрального анализа слоевищ *H. physodes*, трансплантированных в районе Калининской АЭС позволила выявить два



кислотных поллютанта воздуха – сернистый газ и оксид азота. О наличии в атмосфере сернистого газа свидетельствует рост интенсивности полос поглощения в ИК спектрах лишайников (2–4) на частотах 1313, 782, 666 и 517  $\text{см}^{-1}$ , связанных с образованием сульфонов и оксидов азота — на частоте 1381  $\text{см}^{-1}$  (алкилнитраты). Доминирующим загрязнителем атмосферы в районе Калининской АЭС является сернистый газ, присутствие в воздухе диоксида азота носит следовой характер.

Образование сульфонов в образцах 2–4 указывает на длительный период воздействия низких доз сернистого газа на лишайниковое слоевище [4]. Количественный ИК спектральный анализ показал, что содержание сульфонов в образцах, трансплантированных на территории Калининской АЭС (возле градирен), а также в радиусе 0,5 км от нее в несколько раз выше, чем в образце, пересаженных на расстояние 1,9 км от Калининской АЭС. ИК спектр образца 4, пересаженный на расстояние 1,9 км от АЭС демонстрирует незначительные изменения, связанные с накоплением этого токсиканта. В спектрах 5–6 не обнаружены изменения на данных частотах. Анализ атмосферных выбросов Калининской АЭС, в составе которых могут быть радиоактивные изотопы инертных газов (цезий–137, кобальт–60, аргон–41 и т.д. [12]) дает основания предположить, что присутствие в воздухе сернистого газа не связано с деятельностью самой АЭС. В рамках сотрудничества со службой контроля состояния окружающей среды на данной Калининской АЭС удалось выяснить источник загрязнения воздуха сернистым газом. Оказалось, что загрязнение воздуха обусловлено выбросами котельной, которая функционирует на территории Калининской АЭС. Более 10 лет назад, котельная была построена как резервная на случай аварийных ситуаций — при отказе работы 1 энергоблока. После запуска второго энергоблока необходимость в круглогодичном функционировании котельной исчезла. В связи с чем срок ее работы был ограничен до 220 часов в год, в основном для поддержания системы в функциональном состоянии. В качестве топлива на котельной используют мазут. В структуре выбросов при сжигании мазута в топках котлов, выделяются газообразные вещества, в первую очередь большое количество оксидов серы — 7,4 г/кВтч [13]. При работе котельной применяют мазут Волго-Уральского р-на, который характеризуется высокой сернистостью. На втором месте по объему выбросов при сжигании мазута — оксиды азота (2,45 г/кВтч), выбросы твердых веществ незначительны – (0,7), отмечены специфические вещества — оксиды различных элементов ( $\text{V}_2\text{O}_5$ ,  $\text{MnO}_2$ ,  $\text{MgO}_2$  и т.д.), высок выход бенз(а)пирена. В связи с отсутствием в районе Калининской АЭС каких-либо других промышленных объектов, а также значительной удаленностью от индустриальных центров можно с большой долей уверенности утверждать, что основным источником сернистого газа, является работа котельной. В отношении диоксида азота можно предположить, что, частично, его присутствие может быть также следствием выбросов немногочисленного автотранспорта в регионе Калининской АЭС.



Близость водоема к местам трансплантации образцов лишайников в радиусе 0,5 км от Калининской АЭС создала особые микроклиматические условия для быстрого поглощения лишайниками вредных примесей из атмосферы, в первую очередь сернистого газа, а также растворенных в воздухе необходимых микроэлементов. Влажность, полезная для поглощения растворенных элементов из воздуха лишайниковым слоевищем, в условиях загрязнения атмосферы оказалась опасной.

Фурье–ИК спектральный анализ лишайников, трансплантированных в места в разной степени удаленные от Калининской АЭС, позволил установить причины их отсутствия. Низкая встречаемость лишайников в удаленных от АЭС местах (1,9, 5 и 10 км) обусловлена тем, что нет подходящего субстрата (деревьев) для их произрастания. В образцах 5–6 не выявлены какие-либо химические изменения в слоевищах. Присутствие в атмосфере малых количеств сернистого газа на расстоянии 1,9 км от Калининской АЭС, не оказывает существенного влияния на лишайник. Вблизи АЭС (в радиусе 0,5 км) причиной исчезновения лишайников может являться воздействие низких доз доминирующего экотоксиканта в условиях постоянной высокой влажности воздуха, способствующей интенсивному поглощению лишайниковым слоевищем сернистого газа.

**Заключение.** Использование метода трансплантации лишайников дает возможность осуществлять лишеноиндикацию аэротехногенного загрязнения с помощью Фурье–ИК спектрального анализа. С помощью этого подхода на примере Калининской АЭС выяснены основные экотоксиканты, характер их распределения в районах, прилегающих к территории атомной станции. Уровень поглощения поллютантов зависит от наличия водоемов, которые увеличивают влажность воздуха и скорость адсорбции диоксида серы. При сходных концентрациях экотоксиканта в воздухе уровень воздействия на индикаторные виды лишайников может быть разным. При более высокой влажности воздуха увеличивается скорость поглощения и степень токсичности сульфонов. Применение Фурье–ИК спектроскопии позволяет выявить дополнительные источники загрязнения воздуха и оценить уровень их воздействия на экосистемы

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гольдовская Л.Ф. Химия окружающей среды. М., 2005. 296 с.
2. Мейсунова А.Ф., Дементьева С.М., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. ИК-спектроскопическое изучение образцов *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., подвергнутых атмосферному загрязнению. Модельный эксперимент // Ползуновский вестник. Алтай, 2006. С. 348–352.
3. Мейсунова А.Ф. Оценка состояния атмосферы с использованием трансплантации лишайников и ИК спектрального анализа // Антропогенная трансформация природной среды: Материалы Междунар. конф. (18–21 октября 2010 г., г. Пермь). Пермь, 2010. Т. 1, ч. 2. С. 37–41.



4. Мейсурова А.Ф. Оценка токсичного действия диоксида серы на химический состав *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2008. Вып. 7, № 7 (67). С. 63–73.
5. Мейсурова А.Ф., Дементьева С.М. Мониторинг окружающей среды. Ч.1: Применение ИК спектроскопии в лишеноиндикационных исследованиях. Тверь, 2005.
6. Мейсурова А.Ф., Дементьева С.М., Нотов А.А., Антонова Е.И. О некоторых методических аспектах использования Фурье-ИК спектроскопии для организации биомониторинга в районе атомных электростанций // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2010. Вып. 17, № 16. С. 130–136.
7. Мейсурова А.Ф., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Спектроскопическое изучение воздействия окислов азота на слоевища лишайников *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. // Экологическая химия. 2007. Т. 16, вып. 4. С. 27–35.
8. Меньшиков В.Ф. Атомная энергетика сегодня // Россия в окружающем мире 2004: Аналитический сборник / Под ред. Н.Н. Марфенина, С.А. Степанова. М., 2005. С. 81–127.
9. Смит А. Прикладная ИК спектроскопия. М., 1982.
10. Уразбахтина А.Ф., Катаускайте Л.А. Некоторые итоги лишеноиндикационного анализа рекреационных зон г. Твери // Ботанические исследования в Тверском регионе. Тверь, 2003. С. 130–136.
11. Уразбахтина А.Ф., Хижняк С.Д., Дементьева С.М., Нотов А.А., Пахомов П.М. Применение метода Фурье-ИК спектроскопии для лишеноиндикации атмосферного загрязнения в городских районах // Растительные ресурсы. 2005. Т. 41, вып. 2. С. 139–147.
12. Четкин Ю.В., Грачев А.В. Обращение с радиоактивными отходами. Самара, 2000.
13. Экология города / А.С. Курбатова, В.Н. Башкина, Н.С. Касимова. М., 2004.
14. Dinkelaker B., Rohmheld V., Marschner H. Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.) // Plant Cell Environ. 1989. Vol. 12. P. 285–292.
15. Infrared characteristic group frequencies. Tables and Charts / Ed. G. Socrates. London, 1994.
16. Marshner H., Rohmheld V. In vivo measurement of root-induced pH changes at the soil-root interface: effect of plant species and nitrogen source // Pflanzenphysiol. 1983. P. 241–251.
17. Meisurova A. F., Khizhnyak S. D., Pakhomov P. M. IR spectral analysis of the chemical composition of the lichen *Hypogymnia physodes* to assess atmospheric pollution // J. Appl. Spectroscopy. 2009. V. 76, Iss. 3. P. 420–426.



**LICHEN INDICATION OF AEROTECHNOGENIC POLLUTIONS  
BY MEANS OF FTIR SPECTROSCOPIC ANALYSIS AND  
TRANSPLANTATION *HYPOGYMNIA PHYSODES* THALLUS**

**A.F.Meysurova, S.D.Khizhnyak, P.M.Pakhomov**

Tver State University

*Estimation of atmospheric pollutions by the help of FTIR spectroscopic analysis of Hypogymnia physodes (L.) Nyl. thallus transplanted in the range of Kalinin nuclear power station is performed. The main gaseous ecotoxics in surroundings of nuclear power plant are determined and character of their distribution is studied. Factors, which affect on the rate of pollutant's absorption by H. physodes thalli, are defined.*

*Key words: Hypogymnia physodes; FTIR-spectroscopy; sulphurous gas; pollutant; ecotoxificant; indication; transplatation.*