

Биотехнологические методы деструкции отравляющих веществ и продуктов их детоксикации

И.В. Филимонов¹, А.А. Янковская², Н.В. Завьялова¹, А.Н. Голипад¹,
Д.П. Колесников¹, В.А. Ковтун¹, В.И. Холстов³, Е.Н. Ефременко⁴

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение
«27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации,
105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13

²Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического
оружия, 115487, Российская Федерация, г. Москва, ул. Садовники, д. 4а

³Департамент реализации конвенционных обязательств Министерства
промышленности и торговли Российской Федерации, 109074, Российская Федерация,
г. Москва, Китайгородский проезд, д. 7

⁴Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический
факультет, 119234, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3

Поступила 26.12.2016 г. Принята к публикации 02.03.2017 г.

В статье представлен обзор основных результатов экспериментальных и теоретических исследований, выполненных 27 НИЦ МО РФ единолично или совместно с другими научными организациями и учреждениями в период с 1989 по 2016 годы, в области разработки биопрепаратов и биотехнологических методов деструкции ОВ, продуктов их детоксикации, в том числе и реакционных масс, получаемых при промышленном уничтожении химического оружия. Показано, что ремедиация почвы и очистка воды с использованием микроорганизмов-деструкторов или их консорциумов и продуцируемых ими ферментов могут быть использованы для обезвреживания любых продуктов детоксикации ОВ, полученных при различных технологиях химической нейтрализации, и свидетельствуют о возможности осуществления, на основе биокаталитических и микробиологических процессов, экологически безопасного обезвреживания значительных объемов и концентраций загрязнителей, а также больших территорий в местах бывшего производства, хранения, уничтожения и исследования ОВ. На основе проведенного анализа в дальнейшем возможно: обосновать выбор ферментов и штаммов, отличающихся высокой разрушающей способностью и достаточной толерантностью к ОВ; разработать направления и технологические схемы получения экобиопрепаратов (биокатализаторов) на основе ферментов и бактерий деструкторов; разработать технологические схемы проведения биоремедиации загрязненных почв и очистки вод при помощи биокатализаторов – ферментов и иммобилизованных клеток бактерий.

Ключевые слова: биоремедиация почвы и очистка воды; биокатализаторы; ферменты; микроорганизмы-деструкторы; «Дорожная карта»; нейтрализующие средства; экотоксиканты; деструкция отравляющих веществ и продуктов их детоксикации; реакционные массы; уничтожение химического оружия.

Библиографическое описание: Филимонов И.В., Янковская А.А., Завьялова Н.В., Голипад А.Н., Колесников Д.П., Ковтун В.А., Холстов В.И., Ефременко Е.Н. Биотехнологические методы деструкции отравляющих веществ и продуктов их детоксикации // Вестник войск РХБ защиты. 2017. Т. 1. № 1. С. 4–14.

По мере завершения процесса уничтожения запасов ОВ возникают задачи по выявлению загрязненных территорий продуктами их детоксикации и разработке эффективных и малозатратных технологий обеззараживания и очищения почв и вод, а также нейтрализующих средств, обеспечивающих экологическую безопасность.

Создание биопрепаратов (биокатализаторов) и разработка биотехнологий обеззараживания, очистки и восстановления загрязненных почвы и воды в местах бывшего производства, исследования, хранения и уничтожения ОВ способны устранить экологическую нагрузку и обеспечить деструкцию отходов промышленного уничтожения химического оружия и очистить загрязненную почву и воду [1–4].

В отличие от других методов детоксикации токсичных веществ, использование штаммов микроорганизмов-деструкторов и ферментов выгодно отличается отсутствием вторичных отходов, высокой степенью деградации, возможностью полной ассимиляции продуктов. Конечными продуктами биотехнологической деградации ОВ и продуктов их детоксикации являются углекислый газ, метан, вода и неорганические соли [5, 6].

Биотехнологические методы очистки почв становятся все более популярными в Европе и США. В Германии свыше 50 компаний, а в США еще большее их количество предлагают свои услуги по очистке почвы при помощи ферментов и микроорганизмов.

Цель работы — обобщение результатов исследований, полученных специалистами 27 НЦ МО РФ как самостоятельно, так и совместно с другими научными учреждениями по разработке биопрепаратов и биотехнологических методов деструкции малых концентраций ОВ и продуктов их деградации и детоксикации, в том числе реакционных масс (РМ), образующихся при промышленном уничтожении ХО.

С целью устранения экологической нагрузки при реализации Федеральной целевой программы «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации» [7] было создано направление по разработке биотехнологических методов деструкции отходов промышленного уничтожения ХО.

Организатором и куратором этого направления была, и остается по настоящее время, главный научный сотрудник 27 НЦ МО РФ доктор биологических наук, профессор, действительный член Академии военных наук Завьялова Наталья Васильевна.

Непосредственно под ее руководством, с 1989 по 2000 год проводились исследования по следующим направлениям:

- поиск микроорганизмов и получение генетическими методами высокопродуктивных рекомбинантных штаммов деструкторов ОВ и штаммов-продуцентов ключевых ферментов, катализирующих гидролиз ОВ;
- получение ферментных препаратов и оценка возможности их использования для деструкции ОВ и продуктов их нейтрализации;
- изучение концентрационных пределов ОВ и отработка оптимальных условий проведения микробиологического, ферментативного и комплексного процессов деструкции ОВ и продуктов их нейтрализации;
- создание экспериментальных установок и оптимизация режимов биодеградации РМ ОВ;
- разработка методов биотехнологической ремедиации почвы и очистки воды, разрушения корпусов боеприпасов и конверсии твердых отходов в технологиях уничтожения ОВ (зарин, зоман, вещество типа ви-икс, люизит и иприт);
- разработка технологических схем и предложений по технологическому оборудованию при использовании биологических методов в технологиях уничтожения ХО;
- создание биосенсоров для обнаружения и количественного определения малых концентраций ОВ;
- создание методов количественного определения ОВ и продуктов их нейтрализации;
- определение роли и места биотехнологических способов деградации ОВ и продуктов их детоксикации в общей схеме уничтожения химического оружия.

В разработке биотехнологических методов и биокатализаторов для разрушения малых концентраций ОВ и продуктов их детоксикации принимали участие ученые и специалисты научно-исследовательских учреждений войск РХБ защиты ВС РФ: 27 НЦ МО РФ, войсковых частей 26150, 47051, 23527, 61469, Военной академии РХБ защиты, а также Научно-исследовательского центра Волгоградского производственного объединения «Химпром», Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Института биохимии и физиологии микроорганизмов Российской академии наук, Института биохимической физики имени Н.М. Эммануэля Российской академии наук, Института общей генетики Российской академии наук, Государственного научного центра Российской Федерации федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научно-исследовательский институт органической химии и технологии», Научно-исследовательского института «Водгео», Научно-исследовательского института «Медстатистика» Федерального меди-



а

б

в

Рисунок 1 — Биопрепараты для переработки реакционных масс ФОВ
 (а — препарат фермента гексагистидин-органопосфатгидролазы His₆-ОФГ; б — биокатализатор на основе фермента His₆-ОФГ, иммобилизованного на делигнифицированную пшеничную солому; в — биокатализатор на основе клеток *Pseudomonas* sp. 78Г, иммобилизованных в криогель поливинилового спирта)

ко-биологического агентства, Научно-производственного объединения «Союз».

Проведенные исследования показали и экспериментально подтвердили возможность полной микробиологической деструкции фосфонатов и ускоренного разложения иприта, малых концентраций люизита в почве и воде. В ходе выполнения указанных работ были получены следующие основные результаты:

- создана уникальная коллекция микроорганизмов, включающая более 2000 штаммов бактерий и 400 микроскопических грибов, минерализующих фосфорорганические отравляющие вещества (ФОВ) (зарин, зоман, вещество типа ви-икс) и адаптированных к развитию в присутствии иприта, люизита и продуктов их химического разрушения;

- разработана методология оценки биодеградационной активности микроорганизмов применительно ко всем изучаемым ОВ и РМ их химической детоксикации;

- разработаны и апробированы методики количественного определения ОВ и продуктов их детоксикации в почве и воде;

- получены препараты биокатализаторов на основе штаммов микроорганизмов-деструкторов и фермента гексагистидин-органопосфатгидролазы (His₆-ОФГ) для деструкции ФОВ (зарина, зомана, вещества типа ви-икс) и их РМ как в иммобилизованном виде, так и в нативном состоянии, изображенные на рисунке 1.

- подробно изучен фермент гексагистидин-органопосфатгидролаза His₆-ОФГ, способствующий эффективному гидролизу ФОВ;

- методами генетической инженерии получен уникальный микробный суперпродук-

цент, обеспечивающий высокий уровень синтеза внутриклеточной His₆-ОФГ в растворимой и высокоактивной форме;

- показана применимость полученного биокатализатора для деструкции остаточных количеств ФОВ в водных растворах РМ.

Исследованиями, проведенными в 1990-е годы, было определено, что биотехнологические методы по сравнению с другими методами уничтожения высокотоксичных соединений и продуктов их детоксикации выгодно отличаются отсутствием вторичных отходов, высокой степенью деградации, возможностью полной ассимиляции продуктов разложения, малыми энергетическими затратами. Полученные результаты дали основание считать, что использование биотехнологических методов и биокатализаторов является важным звеном в повышении безопасности и экологической чистоты в общей схеме уничтожения ХО.

В период 2003–2008 годов биотехнологические исследования проводились в рамках плановых НИР. В выполнении работ приняли участие специалисты 27 НЦ МО РФ, Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Института биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Института биохимической физики имени Н.М. Эммануэля РАН, ФГУП «ГосНИИОХТ» и войсковых частей 47051, 23527.

В ходе проведения этих исследований был предложен и апробирован новый непрерывный метод анаэробно-аэробной биодеструкции реакционных масс зарина, зомана, вещества типа ви-икс, иприта и ипритно-люизитных смесей. Были спроектированы и созданы на базе ФГУП

«ГосНИИОХТ» одна пилотная и две экспериментальные установки.

Реактор пилотной установки, предназначенной для деструкции реакционных масс с использованием биокатализатора на основе фермента His₆-ОФГ, и экспериментальная установка для деструкции ФОВ представлены на рисунках 2 и 3.

Были созданы соответствующие технологические регламенты. Впервые в мировой практике был применен биотехнологический подход, основанный на комбинированном использовании активных биокатализаторов (фермента His₆-ОФГ, иммобилизованных клеток бактерий-деструкторов и активного ила), последовательно осуществляющих биодеградацию компонентов подлинных реакционных масс вещества типа ви-икс.

Разработана принципиальная схема биоразложения фосфорорганических компонентов РМ, которая включает в себя:

I – разложение в составе РМ остаточных концентраций вещества типа ви-икс и эфиров метилфосфоновой кислоты (МФК) биокатализатором на основе фермента His₆-ОФГ;

II – разложение МФК биокатализатором на основе клеток бактерий *Pseudomonas* sp. 78Г;

III – доочистка сточных вод под действием биокатализатора на основе активного ила с добавлением специфических штаммов бактерий.

В результате обработки РМ вещества типа ви-икс, проведенной на пилотной установке по указанной схеме, были получены сточные воды, которые по индексу токсичности и другим характеристикам удовлетворяли требованиям, предъявляемым к канализационным стокам.

Разработана методика идентификации ОВ и продуктов их детоксикации в водных растворах. Показано, что РМ ФОВ практически полностью минерализуются с образованием метана и углекислого газа, а также минеральных солей хлоридов, фторидов, сульфатов и фосфатов. Предложенный метод не имеет аналогов в мире.

Кроме этого, были разработаны технологические схемы и проведена оптимизация технологических параметров, предложены конкретные биотехнологические схемы очистки сточных вод, содержащих остаточные количества продуктов детоксикации ФОВ, создано новое поколение биосенсоров и приборов для детектирования и количественного определения малых концентраций ОВ.

На рисунке 4 приведена технологическая схема пилотной установки по биодеструкции РМ ФОВ.

Показано, что при помощи биотехнологических методов могут быть решены следующие



Рисунок 2 — Реактор пилотной установки для биодеструкции РМ вещества типа ви-икс с использованием препарата на основе фермента His₆-ОФГ



Рисунок 3 — Профессор Завьялова Н.В. объясняет принцип работы экспериментальной установки для биодеструкции РМ ФОВ

задачи: разложение малых концентраций ОВ; разложение продуктов химической нейтрализации ОВ (РМ); разложение твердых отходов; очистка сточных вод от малых концентраций ОВ и продуктов их детоксикации; биоремедиация почвы, загрязненной ОВ и продуктами их детоксикации.

Полученные результаты запатентованы (5 патентов), а также опубликованы в ряде отечественных и зарубежных научно-технических журналов [8–12].

В 2012–2014 годах в 27 НЦ МО РФ проведены теоретические исследования в рамках плановых НИР, при выполнении которых:

- проведен системный анализ методов, позволивший обосновать стадии биоремедиации почвы и очистки воды, загрязненных продуктами детоксикации ФОВ *in situ* на конверсионных объектах;

- выбраны наиболее приемлемые и необходимые в процессе биоремедиации методы исследования;

- разработан алгоритм биологической очистки почвы и очистки воды *in situ*, который представлен на рисунке 5;

- разработан порядок действий при проведении ремедиации почвы и очистки воды *in situ* с помощью биокатализаторов (рисунок 6);

- разработана принципиальная схема экологически безопасной биологической реме-

диации почвы и очистки грунтовых вод *in situ*, которая приведена на рисунке 7;

- предложена стратегия реабилитации почвы, загрязненной токсичными химикатами, для объектов хранения и уничтожения химического оружия;

- разработан алгоритм проведения оценки стоимости мероприятий по биоремедиации почвы и очистки воды *in situ* на конверсионных объектах и математический аппарат расчета затрат при проведении биоремедиации почвы и очистки воды.

Разработанные алгоритм оценки загрязненной территории, принципы проведения ремедиации почвы и очистки воды, схема проведения процесса биологической очистки в биореакторах, принципиальная схема экологически безопасной ремедиации почвы и очистки воды *in situ*, порядок действий при проведении ремедиации почвы и очистки воды с помощью биокатализаторов, предложенная стратегия реабилитации почвы, загрязненной токсичными химикатами, алгоритм проведения оценки стоимости мероприятий по биоремедиации почвы и очистки воды *in situ* являются составными частями «Дорожной карты» (Road Map) процессов санации и реабилитации территорий объектов по хранению и уничтожению ХО и территорий бывшего производства, хранения и исследования ОВ.

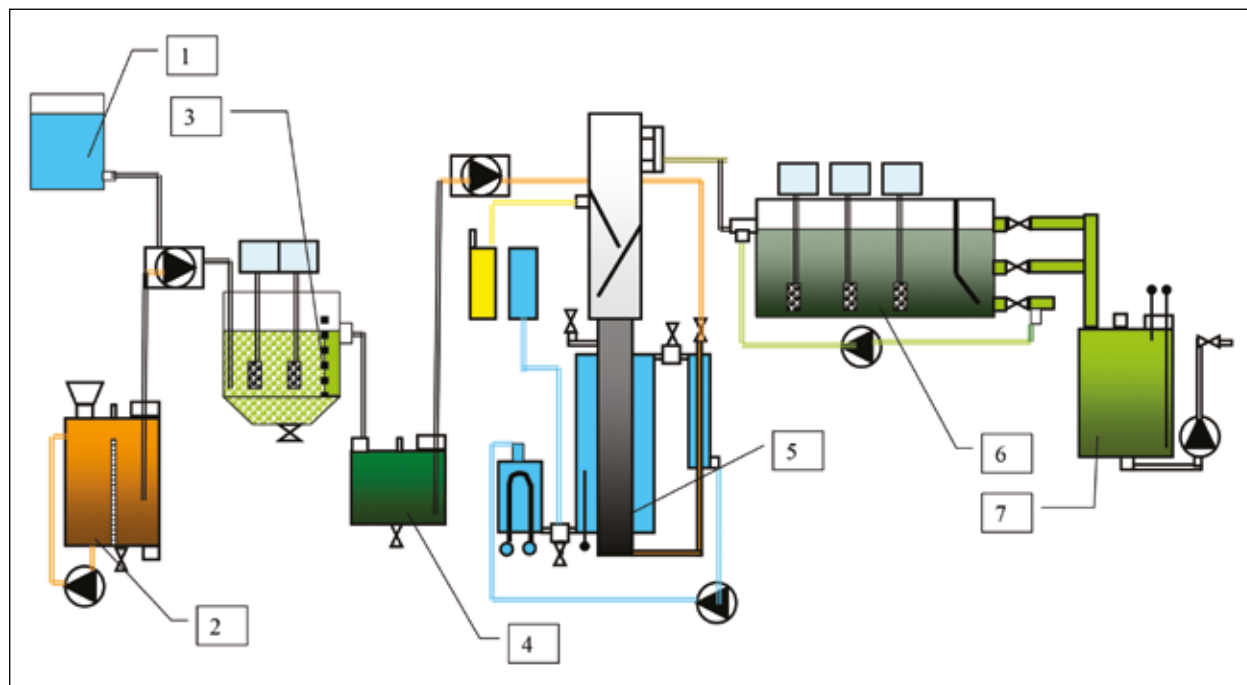
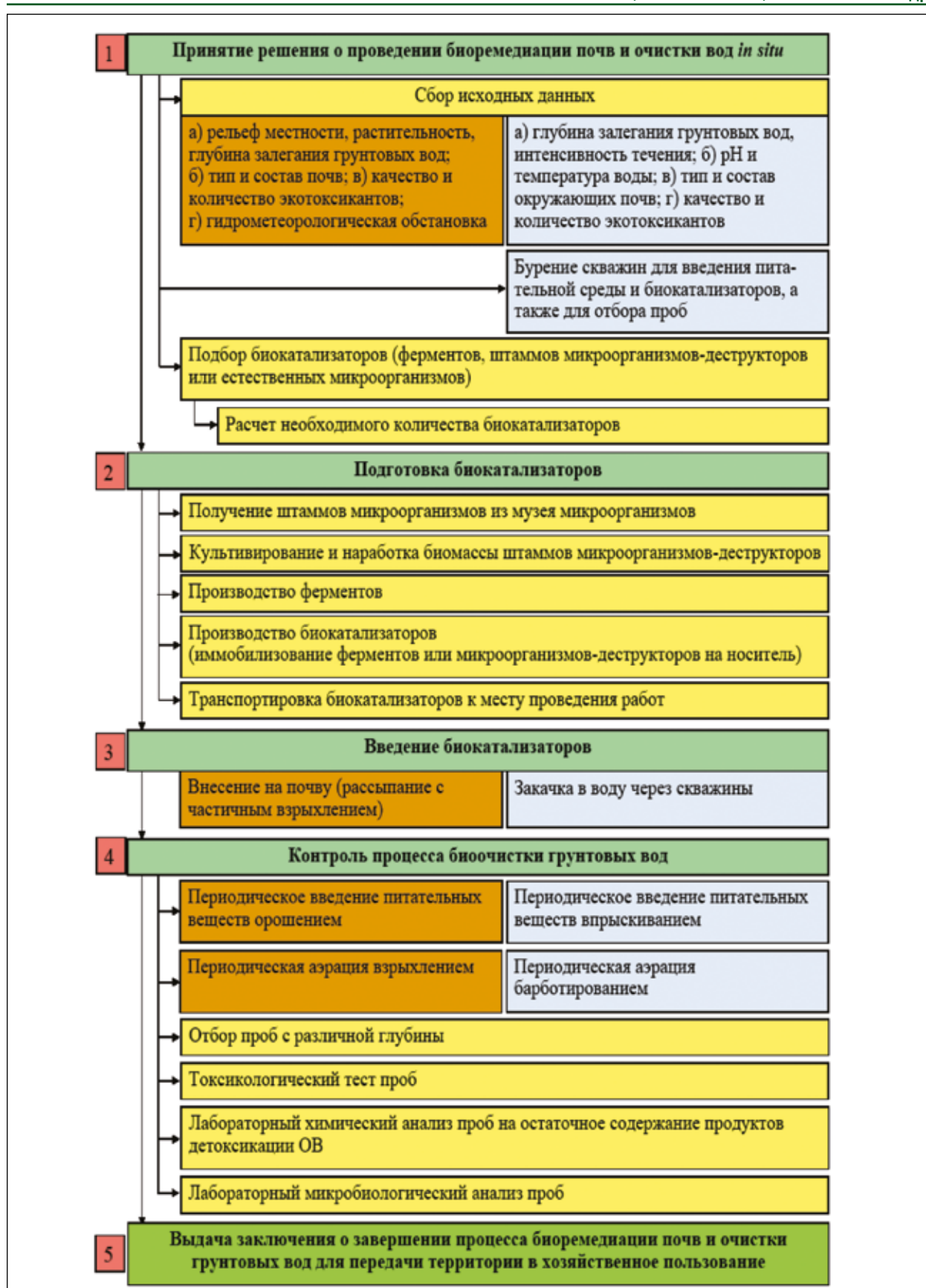


Рисунок 4 — Технологическая схема пилотной установки биодеструкции РМ вещества типа ви-икс (1 — емкость-дозатор глюкозы; 2 — кондиционный резервуар с ферментом His₆-ОФГ; 3 — аэробный реактор с иммобилизованными клетками; 4 — промежуточная емкость; 5 — анаэробный реактор; 6 — аэротенк; 7 — приемная емкость)



Рисунок 5 — Алгоритм биоремедиации почвы и очистки воды *in situ*

Рисунок 6 — Порядок действий при биоремедиации почв и очистке вод *in situ*

Биотехнологические методы деструкции отравляющих веществ и продуктов их детоксикации

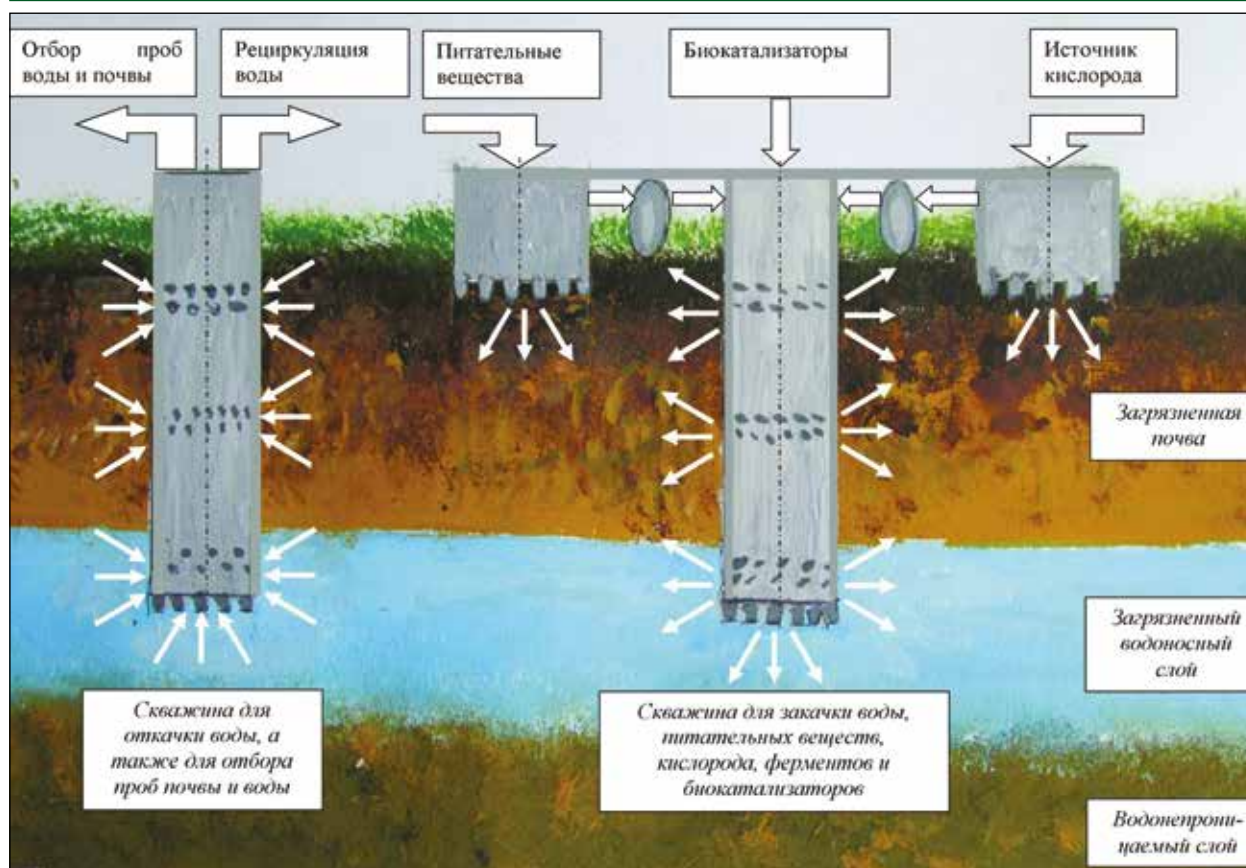


Рисунок 7 — Принципиальная схема проведения биологической очистки почвы и грунтовых вод *in situ*

Таким образом, проведенное исследование по обобщению теоретических и экспериментальных данных по разработке биокатализаторов и биотехнологических методов показало и подтвердило возможность полной биотехнологической деструкции малых концентраций ОВ и продуктов их детоксикации в составе отходов промышленного уничтожения химического оружия (продуктов химической нейтрализации ОВ – реакционных масс); биоремедиации почвы и очистки воды, загрязненных этими экотоксикантами.

Разработанные алгоритмы и «Дорожная карта» позволяют в дальнейшем: обосновать

выбор ферментов и штаммов, отличающихся высокой разрушающей способностью и достаточной толерантностью к ОВ; определить направления и технологические схемы получения экиобиопрепаратов (биокатализаторов) на основе ферментов и бактерий–деструкторов; создать технологические схемы проведения биоремедиации загрязненной почвы и очистки воды, при помощи биокатализаторов-ферментов и иммобилизованных клеток бактерий, в местах бывшего производства, хранения, уничтожения и исследования ОВ.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Завьялова Н.В., Филимонов И.В., Ефременко Е.Н., Холстов В.И., Янковская А.А. Биотехнологические методы и нейтрализующие средства для обеззараживания почв и очистки вод, загрязненных экотоксикантами // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 4. С. 26–33.
2. 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. 33–41.
3. 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.
4. Янковская А.А., Филимонов И.В., Завьялова Н.В., Голипад А.Н., Ковтун В.А. Экологически безопасная биоремедиация почвы и очистка воды *in situ* от продуктов деструкции отравляющих веществ // Теоретическая и прикладная экология. 2016. № 4. С. 89–95.
5. 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 ферментного и бактериального биокатализаторов в процессах биодеструкции ФОВ и продуктов их разложения // Теоретическая и прикладная экология. 2015. № 3. С. 35–39.
6. Ефременко Е.Н., Завьялов В.В., Завьялова Н.В., Холстов В.И., Янковская А.А. Разрыв С–Р связи в фосфонатах под действием ферментных биокатализаторов // Теоретическая и прикладная экология. 2015. № 3. С. 47–54.
7. Федеральная целевая программа «Уничтожения запасов химического оружия в Российской Федерации», утвержденная Постановлением Правительства Российской Федерации от 21.03.1996 г. № 305 (в ред. Постановлений Правительства РФ от 24.10.2005 № 639, от 21.06.2007 № 392, от 29.12.2007 № 969, от 12.09.2008 № 679, от 09.12.2010 № 1005, от 29.11.2011 № 988, от 27.12.2012 № 1420).
8. Патент РФ на изобретение № 2154103 (1999).
9. Патент РФ на изобретение № 2330717 (2008).
10. Патент РФ на изобретение № 2408724 (2011).
11. Патент РФ на изобретение № 2451077 (2012).
12. Патент РФ на изобретение № 2525658 (2014).

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации. 105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13.

Филимонов Игорь Владимирович. Старший научный сотрудник, канд. техн. наук.

Завьялова Наталья Васильевна. Главный научный сотрудник, д-р биол. наук, проф., акад. АВН.

Голипад Александр Николаевич. Начальник управления, канд. техн. наук.

Колесников Дмитрий Петрович. Заместитель начальника центра, канд. техн. наук, доцент.

Ковтун Виктор Александрович. Начальник центра, канд. хим. наук, доцент.

Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического оружия, 115487, Российская Федерация, г. Москва, ул. Садовники, д. 4а.

Янковская Александра Анатольевна. Старший офицер отдела.

Департамент реализации конвенционных обязательств Министерства промышленности и торговли Российской Федерации. 109074, Российская Федерация, г. Москва, Китайгородский проезд, д. 7.

Холстов Виктор Иванович. Директор, д-р хим. наук, проф.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет. 119234, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3.

Ефременко Елена Николаевна. Зав. лабораторией, д-р биол. наук, проф.

Адрес для переписки: Завьялова Наталья Васильевна; natzavjalova@rambler.ru

Biotechnological Methods of Destruction of Chemical Warfare Agents and Their Detoxication Products

I.V. Filimonov, A.A. Yankovskaya, N.V. Zavyalova, A.N. Golipad, D.P. Kolesnikov,
V.A. Kovtun, V.I. Kholstov, Ye.N. Yefremenko

¹*Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation*

²*Federal Directorate for Safe Storage and Destruction of Chemical Weapons, Sadovniki Street 4a, Moscow 115487, Russian Federation*

³*Department for Implementation of Convention-Related Obligations, Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation, Kitaygorodksy Drive 7, Moscow 109074, Russian Federation*

⁴*Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry, Leninskie Gory 1-3, Moscow 119234, Russian Federation*

The work presents an overview of the main results of experimental and theoretical researches made by the Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation together with other scientific organizations and institutions in 1989–2014 in the sphere of the development of biocatalysts, and biotechnological methods of destruction of chemical warfare agents (organophosphorus agents) and the products of their detoxication, including the reactionary masses, obtained during the industrial destruction of chemical weapons. The article shows that the methods of the remediation of soil and purification of water with the usage of microorganisms-destroyers or their consortiums and their enzymes can be used for the neutralization of any detoxication products of chemical warfare agents, obtained by the usage of different technologies of chemical neutralization. This indicates the possibility of environmentally friendly neutralization and detoxification of considerable volume and concentrations of agents as well as large territories at the sites of former production, storage and destruction of chemical warfare agents. These eco-friendly and safe neutralization and detoxification technologies can be based on microbial biocatalytic processes. The authors assert that on the basis of the analysis mentioned above it is possible to substantiate the choice of the enzymes and the strains with high destruction ability and tolerance towards toxic agents, to elaborate the technological schemes of the production of the eco-biopreparations (biocatalysts) on the basis of the enzymes and microorganisms-destroyers and to develop the technological schemes of the remediation of soil and purification of water using biocatalyst-enzymes and immobilized bacterial cells.

Keywords: *bioremediation of soils and water purification; biocatalysts; enzymes; microorganisms-destroyers; «Road Map»; neutralizing agents; ecotoxic substances; degradation of organophosphorous agents and their detoxication products; reactionary masses; chemical weapons destruction.*

For citation: *Filimonov I.V., Yankovskaya A.A., Zavyalova N.V., Golipad A.N., Kolesnikov D.P., Kovtun V.A., Kholstov V.I., Yefremenko Ye.N. Biotechnological Methods of Destruction of Chemical Warfare Agents and Their Detoxication Products // Journal of NBC Protection Corps. 2017. V. 1. № 1. P. 4–14.*

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

1. Zavyalova N.V., Filimonov I.V., Yefremenko Ye.N., Kholstov V.I., Yankovskaya A.A. Biotechnological methods and neutralizing agents for decontamination of soil and water treatment, polluted with ecotoxins // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2014. № 4. P. 26–33 (in Russian).
2. Zavyalova N.V., Filimonov I.V., Kovtun V.A., Golipad A.N., Petrov S.V., Styazhkin K.K., Yefremenko Ye.N., Kholstov V.I., Yankovskaya A.A. The main process steps and stages of bioremediation of soil and water purification *in situ* // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2014. № 4. P. 33–41 (in Russian).
3. Zavyalova N.V., Filimonov I.V., Yefremenko Ye.N., Kholstov V.I., Yankovskaya A.A. Biocatalysts based on strains of microorganisms and enzymes having an increased ability to degrade toxic substances and their degradation products during cleaning of soils and waters // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2014. № 4. P. 42–50 (in Russian).
4. Yankovskaya A.A., Filimonov I.V., Zavyalova 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. № 4. P. 89–95 (in Russian).
5. Yefremenko Ye.N., Lyagin I.V., Gudkov D.A., Stepanov N.A., Sen'ko O.V., Maslova O.V., Kovalev L.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. № 3. P. 35–39 (in Russian).
6. Yefremenko Ye.N., Zavyalov V.V., Zavyalova N.V., Kholstov V.I., Yankovskaya A.A. Cleavage of C–P bond in phosphonates under the action of enzymatic biocatalysts // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2015. № 3. P. 47–54 (in Russian).
7. The federal target program «Chemical weapons destruction in the Russian Federation», approved by RF Government Decree of 21.03.1996 № 305 (as amended. RF Government Decree of 24.10.2005 № 639, from 21.06.2007 № 392, from 29.12.2007 / № 969, from 12.09.2008 № 679, from 09.12.2010 № 1005, from 29.11.2011 № 988, from 27.12.2012 № 1420) (in Russian).
8. Patent RU № 2154103 (1999) (in Russian).
9. Patent RU № 2330717 (2008) (in Russian).
10. Patent RU № 2408724 (2011) (in Russian).
11. Patent RU № 2296164 (2007) (in Russian).
12. Patent RU № 2360967 (2009) (in Russian).

Authors

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation.

Filimonov I.V. Senior Researcher. Candidate of Technical Sciences.

Zavyalova N.V. Leading Researcher. Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the Academy of Military Sciences.

Golipad A.N. Chief of the Department. Candidate of Technical Sciences.

Kolesnikov D.P. Deputy Head of the Centre. Candidate of Technical Sciences, Associate Professor.

Kovtun V.A. Head of the Centre. Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor.

Federal Directorate for Safe Storage and Destruction of Chemical Weapons. Sadovniki Street 4a, Moscow 115487, Russian Federation.

Yankovskaya A.A. Senior Officer of the Department.

Department for Implementation of Convention-Related Obligations, Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation. Kitaygorodsky Drive 7, Moscow 109074, Russian Federation.

Kholstov V.I. Director. Doctor of Chemical Sciences, Professor.

Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry. Leninskie Gory 1-3, Moscow 119234, Russian Federation.

Yefremenko Ye.N. Laboratory Chief. Doctor of Biological Sciences, Professor.

Address: Zavyalova Natalya Vasilyevna; natzavjalova@rambler.ru