

浅层地下水氯代烃污染天然生物降解的判别依据

何江涛, 史敬华, 崔卫华, 刘菲, 陈鸿汉

中国地质大学水资源与环境学院, 北京 100083

摘要: 天然条件下氯代烃生物降解的判别, 是确定氯代烃污染天然衰减恢复治理技术是否可以采用的关键, 可为天然衰减恢复治理技术的应用提供技术支持。通过分析氯代烃生物降解的特性发现, 地下水环境中氯代烃的生物降解, 必然伴随有第一-基质、电子受体、中间产物以及有关的一些间接性指标, 在污染羽状体不同位置及污染羽状体内外产生明显变化, 这些指标的变化均可以不同程度地指示氯代烃生物降解的产生。据此总结出氯代烃生物降解衰减的判别依据分别为电子受体、第一-基质(能源和碳源)及降解中间产物三类指标。

关键词: 氯代烃; 天然衰减; 生物降解; 判别依据。

中图分类号: X703

文章编号: 1000-2383(2004)03-0357-06

收稿日期: 2003-11-10

Determining Criteria for Natural Biodegradation of Chlorinated Hydrocarbons in Shallow Groundwater

HE Jiang-tao, SHI Jing-hua, CUI Wei-hua, LIU Fei, CHEN Hong-han

School of Water Resources and Environment, China University of Geosciences, Beijing 100083, China

Abstract: Natural biodegradation is one of the important processes resulting in the decrease of chlorinated pollutants in environments. Identification of the occurrence of natural biodegradation is thus the key issue to evaluate the practicability of the natural attenuation of these compounds. Through the analysis of the characteristics of biodegradation, we found that, the biodegradation of chlorinated compounds in groundwater environments always leads to the visible change of electron acceptors, primary substances, intermediate products, and other indirect indexes. The spatial variation of these substances around the different locations of the polluted plumes is proposed to be a consequence of biodegradation of chlorinated compounds. On this basis, this paper summarized the determining criteria for the evaluation of biodegradation of chlorinated hydrocarbons in groundwater under natural conditions, including electron acceptors, primary substances and intermediate products.

Key words: chlorinated solvent; natural attenuation; biodegradation; determining criterion.

氯代烃作为一种重要的化工原料和有机溶剂, 广泛应用于各种现代工业中。由于储存及处置不当等一些原因, 使其通过挥发、泄露、废水排放等途径进入地下水环境, 成为地下水有机污染中最普遍的污染物, 其中最常见的主要是三氯乙烯(TCE)和四氯乙烯(PCE) (Beneteau *et al.*, 1999; Eguchi *et al.*, 2001; Gao and Skeen, 1999; Klier, *et al.*, 1999; Knauss *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 1999)。由于氯代烃属于比水重的非水相液体(DNAPLs),

且化学性质非常稳定, 一旦进入包气带和地下水, 其污染调查及恢复治理的难度非常大。目前, 国外针对地下水氯代烃污染的治理技术主要有两大分支, 一类是非生物治理技术, 包括零价铁渗透反应格栅处理技术(Gillham and O'Hannesin, 1994; Matheson and Tratnyek, 1994; O'Hannesin and Gillham, 1998; Orth and Gillham, 1996; 刘菲和钟佐燊, 2001)、强氧化剂化学氧化技术(Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group, In

Situ Chemical Oxidation Work Team, 2001; Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group, DNAPLs/Chemical Oxidation Work Team, 2002)、就地冲洗技术和水力控制技术(Groundwater Remediation Technologies Analysis Center, <http://www.gwrtac.org/>), 另一类是氯代烃共代谢降解的微生物治理技术, 主要包括生物活化技术 (biostimulation) 和生物扩增技术 (bioaugmentation)。但是, 目前这些技术大多处于试验研究阶段, 很少有成功运用的实例。因此, 氯代烃天然衰减 (natural attenuation) 研究, 成为地下水氯代烃污染控制和恢复的必要手段。

一般来说, 氯代烃在包气带及地下水中迁移主要受挥发、稀释、吸附、化学反应、生物或非生物降解等作用影响, 从而产生衰减、转化以及迁移滞后等现象。这其中, 生物降解是造成地下水中氯代烃转化的主要原因, 也是造成氯代烃衰减的重要原因。通常情况下, 天然含水层中产生的氯代烃降解转化多数是生物成因的, 但是氯代烃的化学性质相当稳定, 天然条件下往往需要多个条件同时满足方可能产生降解, 且不同氯代烃降解所要求的条件也不相同, 因此, 具体到某一地下水环境中氯代烃能否产生生物降解仍是一个值得探讨的问题, 它的存在与否以及进行的程度, 是研究地下水氯代烃迁移转化规律的关键, 同时也是确定氯代烃污染天然衰减恢复治理技术是否可以采用的关键。本文将对氯代烃的生物降解性及天然条件下氯代烃生物降解衰减的判别依据进行阐述, 为氯代烃的迁移转化及污染控制恢复研究提供一些思路。

1 氯代烃的生物降解

氯代烃是一种比水重的非水溶相液体 (DNAPLs), 从结构上说, 它们是由脂肪烃、芳香烃及其衍生物中的一个或几个氢原子被氯原子取代之后的产物, 它们化学性质非常稳定, 通常难以生物降解。就目前国外研究的结果来看, 除氯乙烯 (VC)、二氯甲烷 (DCM) 和 1,2-二氯乙烷 (1,2-DCA) 可以作为微生物生长代谢的第一基质, 能够被微生物直接利用降解外, 其他的氯代烃多数只能以共代谢的形式被微生物降解 (Burbach, 1994; McCarty and Semprini, 1994; Tandol *et al.*, 1994; Schollhorn *et al.*, 1997; Hirl and Irvine, 1997; Beak International *et*

al., 1997; Komatsu *et al.*, 1997; Magnuson *et al.*, 1998)。在氯代烃共代谢降解过程中, 生长基质作为电子供体, 提供电子, 而地下水系统中的溶解氧 (O_2)、硝酸盐 (NO_3^-)、Fe(III) (如 Fe^{3+} 、 $Fe(OH)_3$ 等)、硫酸盐 (SO_4^{2-}) 和二氧化碳 (CO_2) 等作为电子受体接受电子, 从而发生氧化—还原反应, 生长基质被降解。与此同时, 微生物所产生的酶, 对氯代烃也将产生作用, 氯代烃“搭车”产生脱氯转化, 其母体 (R-Cl) 释放 1 个氯离子, 并获得 1 个氢原子, 同时发生了 2 个电子的转移 (Distefano *et al.*, 1991)。因此, 氯代烃在反应过程中也是作为电子受体参与反应的, 单其本身并不能作为能源和碳源被微生物所利用。所以, 氯代烃在共代谢降解过程中肯定伴有第一基质和其他电子受体的消耗。此外, 不同的氧化还原环境中, 微生物降解反应所利用的电子受体不同。一般好氧菌仅利用氧作为电子受体, 而兼性菌和厌氧菌则可利用 NO_3^- 、Fe(III)、 SO_4^{2-} 和 CO_2 作为电子受体。随着地下水环境由氧化环境变为还原环境, 且还原性的逐步增强, 电子受体被利用的顺序依次是 O_2 、 NO_3^- 、Fe(III)、 SO_4^{2-} 和 CO_2 , 所对应的氧化还原环境分别为好氧环境、硝酸盐还原环境、铁还原环境、硫酸盐还原环境、产甲烷还原环境 (图 1)。表 1 总结了近年来国外不同学者对不同条件下氯代烃降解的研究结果。

从表 1 中的统计结果可以看出, 地下水氯代烃污染常见的 TCE 在好氧及厌氧条件下都可以发生共代谢降解, 而 PCE 只能在厌氧条件下发生共代谢降解。一般来说, 氯代烃降解过程中产生的脱氯现象

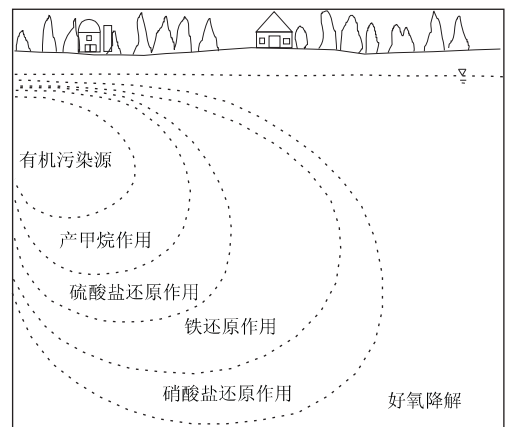


图 1 污染地下水中电子受体分带示意图

Fig. 1 Zonation of electron acceptors in contaminated groundwater

表 1 几种常见氯代烃在好氧和厌氧条件下降解转化的统计结果

Table 1 Degradation of common chlorinated solvents under aerobic and anaerobic conditions

降解过程		氯代烃								
		PCE	TCE	DCE	VC	1,1,1-TCA	CT	CF	DCM	
好氧生物降解	作为第一-基质	N	N	Y*	Y	N	N	N	Y	
	共代谢降解	烷烃	N	Y	Y	Y	Y*	N	Y	Y
		芳香烃	N	Y	Y	Y	N	N	N	N
		氨	N	Y	Y*	Y*	Y	N	Y	Y
		作为第一-基质	N	N	N	Y	N	N	N	Y
厌氧生物降解	共代谢降解	反硝化	Y*	Y*	Y*	Y*	N	Y	Y*	Y
		铁还原	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
		硫酸盐还原	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
		甲烷生成	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
	化学降解(非生物转化)	N	N	N	N	Y	Y*	N	N	

据 Beak International *et al.* (1997), Y. 文献统计结果一致认为出现降解; N. 文献统计结果一致认为不出现降解; Y*. 文献统计结果不一致, 存在不同观点, 可能出现降解; 作者对表中非生物转化一栏中的结果表示怀疑, 因为近年来已有大量证据表明 PCE、TCE、DCE 等可以在零价铁存在的条件下产生非生物成因的还原性脱氯。PCE. 四氯乙烯; TCE. 三氯乙烯; DCE. 二氯乙烯; VC. 氯乙烯; 1,1,1-TCA. 1,1,1-三氯乙烷; CT. 四氯化碳; CF. 三氯甲烷; DCM. 二氯甲烷。

是逐级发生的, 而高氯代的氯代烃氧化性比低氯代的氯代烃氧化性要强很多, 因此, 高氯代的氯代烃可以在还原性较弱的环境中发生脱氯, 低氯代的氯代烃要进一步脱氯则需更强的还原环境。氧化环境中, 高氯代的氯代烃由于其本身氧化性较强, 所以难以被氧化降解, 而低氯代的氯代烃则容易被氧化降解。正是由于这个原因, 高氯代的氯代烃在还原条件下脱氯过程中, 易发生中间产物的积累。例如, PCE、TCE 降解过程中很容易产生 DCE 和 VC 的积累, 如果后续环境为好氧环境, 则容易实现氯代烃的最终完全脱氯 (Bouwer and McCarty, 1983; Vogel and McCarty, 1985; Barrio *et al.*, 1986; Freedman and Gossett, 1989)。但是, 能降解并不代表天然条件下这些降解作用会发生。氯代烃在天然的地下水环境系统中能否发生生物降解受到诸多因素影响。首先, 天然含水层系统中必须有可供微生物利用的第一-基质及可以实现共代谢降解氯代烃的微生物存在; 其次, 还要有适合于微生物实现共代谢降解的氧化还原环境。因此, 天然条件下的地下水环境系统中, 氯代烃能否发生生物降解需要根据具体情况来判定。

2 氯代烃生物降解的判别依据

由于氯代烃在共代谢降解过程中伴有第一-基质和其他电子受体的消耗, 据此可以以地下水中第一-基质和电子受体消耗, 及其所引起的地下水的某些

组分和某些指标变化作为判定氯代烃产生生物降解的间接标志, 例如, DO、NO₃⁻、SO₄²⁻ 被消耗, HCO₃⁻ 和 Fe²⁺ 明显增加, 氧化还原电位明显降低, 作为第一-基质的溶解性有机碳 (DOC) 及单环芳烃 (BTEX) 等浓度降低等。这里需要说明的是, 这些指标的变化往往是产生生物降解的很好标志, 但有生物降解产生并不能说明氯代烃一定产生了降解。国外有学者研究表明, 第一-基质与氯代烃降解的比例常常会大于 10 : 1, 这说明氯代烃“搭车”降解的份额是相对比较小的。但反过来说, 如果氯代烃产生了生物降解, 那么这些指标的变化则是必然的。因此, 我们说这些是判别氯代烃降解的间接标志。此外, 氯代烃降解过程中出现的中间产物积累也可以作为判定氯代烃产生生物降解的依据, 例如: PCE、TCE 降解过程中出现 DCE、VC 积累。除此之外, 污染羽状体下游污染物的总质量是否有明显减少, 地下水中的微生物活性是否增强等也是判定氯代烃是否产生生物降解的一种有效补充手段。氯代烃共代谢降解过程中, 氯代烃及其降解中间产物的浓度变化及地下水电子受体浓度变化典型曲线见图 2, 3 (Geo-Syntec Consultants, *et al.*, 1999)。

为了判定地下水环境中是否存在氯代烃的生物降解转化, 并对这种天然条件下的转化进行评价, 国外学者全面系统地总结出了天然条件下地下水中氯代烃微生物降解的判定依据, 并给出了各项指标的评分 (表 2, Minnesota Pollution Control Agency, 1999)。表中各项指标的评分标准主要依据其与氯代烃生物降解的相关程度来进行划分, 相关程度高的

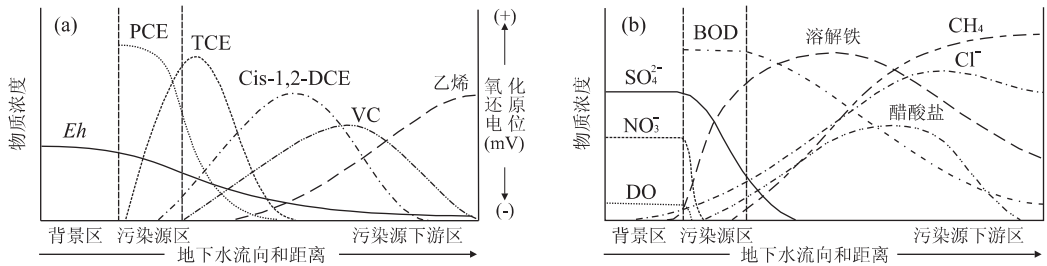


图 2 厌氧条件下氯代烃的生物降解模式

Fig. 2 Common patterns of chlorinated solvent biodegradation in an anaerobic system

a. 氯代烃及其降解中间产物的浓度变化; b. 地下水电子受体浓度变化曲线

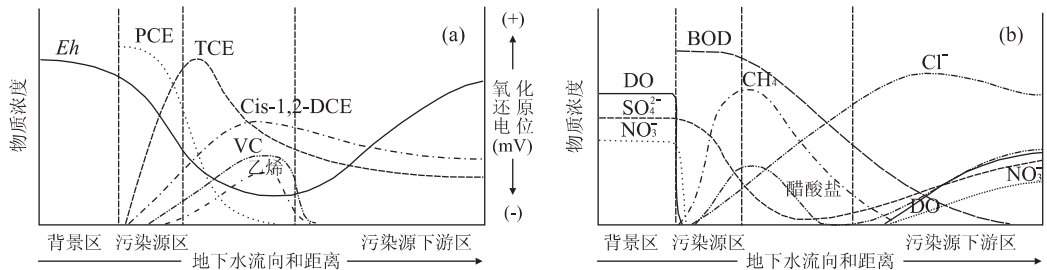


图 3 厌氧/好氧条件下氯代烃的生物降解模式

Fig. 3 Common patterns of chlorinated solvent biodegradation in a sequential aerobic/anaerobic system

a. 氯代烃及其降解中间产物的浓度变化; b. 地下水电子受体浓度变化曲线

分值则高,反之则低,分值范围 0~3 分。根据表中各项指标测试,进行评分,然后求和。当总分为 0~5 时,微生物降解证据不足;当总分为 6~14 时,微生物降解证据有限;总分为 15~20 时,微生物降解证据充足;总分大于 20 时,微生物降解证据十分充分。据此,可以比较准确地判定出地下水中氯代烃是否发生了生物降解。需要说明的是,该评分标准在应用过程中需要注意以下几个问题:(1)表 2 中的评分标准更适合于氯代烯烃类,对于其他氯代烃溶剂有效性较差。例如二氯甲烷和氯苯可以在好氧条件下发生降解,TCA 可以产生非生物成因的降解。因此,表 2 中适合于氯代烯烃的氧化还原条件对于其他氯代溶剂可能不适用;(2)依据表 2 中的评分标准所得出的结果,并不能反映出天然衰减恢复技术是否适用,因为表 2 中的指标所反映出的仅是氯代烃是否产生生物降解,并不能反映出降解反应速度的快慢,而氯代烃生物降解反应的快慢是决定天然衰减恢复治理技术是否可行的一个关键;(3)单一的强还原环境并不能保证微生物对污染物降解存在或脱氯反应的发生。

从表 2 中的分析指标可以看出,指标主要可分为电子受体、第一基质(能源和碳源)、降解中间产物

三类,它们的分值一般为 2~3 分。从前面的分析也可以看出,这三类指标与氯代烃的生物降解密切相关,可作为氯代烃生物降解的主要判别指标。

3 结论

(1)氯代烃化学性质非常稳定,一般的潜层地下水环境难以满足其生物降解的条件,且即使发生降解,除少数氯代烃能够被微生物直接利用作为生长代谢的第一基质外,其他的氯代烃多数只能以共代谢的形式被微生物降解。(2)氯代烃在共代谢过程中是作为电子受体参与反应的,其降解过程中伴有第一基质和其他电子受体的消耗,第一基质和电子受体消耗,及其所引起的地下水的某些组分和某些指标变化,例如,DO、NO₃⁻、SO₄²⁻被消耗,HCO₃⁻和 Fe²⁺明显增加,氧化还原电位明显降低,作为第一基质的溶解性有机碳(DOC)及单环芳烃(BTEX)等浓度降低等可以作为判定氯代烃产生生物降解的间接标志。(3)以电子受体、第一基质、降解中间产物等指标的变化可有效地判别出天然条件下,氯代烃是否产生了生物降解。

表 2 天然条件下地下水中氯代烃微生物降解判定的分析指标及评分

Table 2 Analytical parameters and weightings for estimating biodegradation of chlorinated solvents in groundwater under natural conditions

分析指标	污染地段	说明	分数
DO	<0.5 mg/L	还原性脱氯上限浓度	3
DO	>1 mg/L	VC 可发生好氧氧化,但还原性脱氯不会出现	-3
NO ₃ ⁻	<1 mg/L	浓度高时会与氯代烃还原脱氯产生竞争	2
Mn ²⁺	>1 mg/L	cDCE 厌氧氧化可能产生	2
Fe ²⁺	>1 mg/L	还原性脱氯可能产生,VC 厌氧氧化成 CO ₂ 也可能出现	3
SO ₄ ²⁻	<20 mg/L	浓度高时会与氯代烃还原脱氯产生竞争	2
S ²⁻	>1 mg/L	氯代烃还原性脱氯可能产生	3
CH ₄	>0.01 mg/L	最终还原降解产物	2
CH ₄	>1 mg/L	VC 发生积累	3
CH ₄	<1 mg/L	VC 发生氧化	
Eh	<50 mV	氯代烃还原性脱氯可能产生	1
Eh	<-100 mV		2
pH	5<pH<9	氯代烃还原性脱氯产生所要求的范围	
DOC	>20 mg/L	碳源和能源,推动脱氯反应进行,可以是天然的,也可以是人为的	2
温度	>20 °C	温度超过 20 °C,反应速度会加快	1
CO ₂	>2 倍背景值	最终氧化降解产物	1
碱度	>2 倍背景值	CO ₂ 与含水层矿物组分反应结果	1
Cl ⁻	>2 倍背景值	污染羽状体与背景值相比,氯代烃脱氯产物	2
H ₂	>1 nmol/L	氯代烃还原性脱氯可能产生,VC 可能产生积累	3
H ₂	<1 nmol/L	VC 被氧化	
挥发性脂肪酸	>0.1 mg/L	芳香族化合物降解的中间产物,碳源和能源	2
BTEX	<0.1 mg/L	碳源和能源,推动脱氯反应进行	2
PCE		污染物释放	0
TCE		污染物释放	0
TCE		PCE 降解产物	2*
DCE		污染物释放	0
DCE		TCE 降解产物,如果 Cis-1,2-DCE 含量超过总 DCE 的 80%, 很可能是 TCE 或 PCE 的降解产物	2*
VC		污染物释放	0
VC		DCE 降解产物	2*
乙烯/乙烷	<0.1 mg/L	VC 降解产物>0.01 mg/L	2
		VC 降解产物>0.1 mg/L	3
氯乙烷		还原条件下 VC 降解产物	2
1,1,1-TCA		污染物释放	0
1,1-DCE		TCE 降解产物或 1,1,1-TCA 非生物降解产物	

打*号的表示仅当该化合物是其他化合物降解的产物时,才能给予的评分.据 Minnesota Pollution Control Agency, 1999.

References

Barrio, L. G., Parsons, F. Z., Nassar, R. S., et al., 1986. Sequential dehalogenation of chlorinated ethenes. *Environ. Sci. Technol.*, 20:96-99.

Beak International, Dow Chemical Company, DuPont Company, et al., 1997. Natural attenuation of chlorinated solvents in groundwater: Principles and practices. Technical/Regulatory Guidelines.

Beneteau, K. M., Aravena, R., Frape, S. K., 1999. Isotopic characterization of chlorinated solvents—Laboratory and field results. *Organic Geochemistry*, 30:739-753.

Bouwer, E. J., McCarty, P. L., 1983. Transformation of 1-

and 2-carbon halogenated aliphatic organic compounds under methanogenic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45:1286-1294.

Burbach, B. L., 1994. Effect of environmental pollutants and their metabolites on a soil mycobacterium. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 41:134-136.

Distefano, T. D., Gossett, J. M., Zinder, S. H., 1991. Reductive dechlorination of high concentrations of tetrachloroethene to ethane by an anaerobic enrichment culture in the absence of methanogenesis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57:2287-2292.

Eguchi, M., Kitagawa, M., Suzuki, Y., et al., 2001. A field

- evaluation of in situ biodegradation of trichloroethylene through methane injection. *Wat. Res.*, 35(9): 2145—2152.
- Freedman, D. L., Gossett, J. M., 1989. Biological reductive dechlorination of tetrachloroethylene and trichloroethylene to ethylene under methanogenic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55: 2144—2151.
- Gao, J. W., Skeen, R. S., 1999. Glucose-induced biodegradation of cis-dichloroethylene under aerobic conditions. *Wat. Res.*, 33(12): 2789—2796.
- GeoSyntec Consultants, Dow Chemical Company, DuPont Company, et al., 1999. Natural attenuation of chlorinated solvents in groundwater; Principles and practices. Technical/Regulatory Guidelines.
- Gillham, R. W., O'Hannesin, S. F., 1994. Enhanced degradation of halogenated aliphatics by zero-valent iron. *Ground Water*, 32: 958—967.
- Hirl, P. J., Irvine, R. L., 1997. Reductive dechlorination of perchloroethylene anaerobic sequencing batch bio-film reactors (AnSEER). *Wat. Sci. Tech.*, 35: 49—56.
- Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group, DNAPLs/Chemical Oxidation Work Team, 2002. Dense non-aqueous phase liquids (DNAPLs): Review of emerging characterization and remediation technologies.
- Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group, In Situ Chemical Oxidation Work Team, 2001. Technical and regulatory guidance for in situ chemical oxidation of contaminated soil and groundwater.
- Klier, N. J., West, R. J., Donberg, P. A., 1999. Aerobic biodegradation of dichloroethylenes in surface and subsurface soils. *Chemosphere*, 38(5): 1175—1188.
- Knauss, K. G., Dibley, M., Leif, R. N., et al., 1999. Aqueous oxidation of trichloroethene (TCE): Akinetic analysis. *Applied Geochemistry*, 14: 531—541.
- Komatsu, T., Shinymo, J., Momonoi, K., 1997. Reductive transformation of tetrachloroethylene to ethylene and ethane by an anaerobic filter. *Wat. Sci. Tech.*, 36: 125—132.
- Liu, F., Zhong, Z. S., 2001. Treatment technology of volatile chlorinated organic compounds in groundwater by permeable reactive barrier. *Earth Science Frontiers*, 8(2): 309—314 (in Chinese with English abstract).
- Magnuson, J. K., Stern, R. V., Gossett, J. M., et al., 1998. Reductive dechlorination of tetrachloroethene to ethane by a two-component enzyme pathway. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64: 1270—1275.
- Matheson, L. J., Tratyek, P. G., 1994. Reductive dehalogenation of chlorinated methanes by iron metal. *Environ. Sci. Technol.*, 28: 2046—2053.
- McCarty, P. L., Semprini, L., 1994. Ground-water treatment for chlorinated solvents. In: Mattew, J. E., ed., Handbook of bioremediation. Lewis Pub, NY, USA, 87—116.
- Minnesota Pollution Control Agency, 1999. Guidelines, natural attenuation of chlorinated solvents in ground water. Minnesota Pollution Control Agency Site Remediation Section.
- O'Hannesin, S. F., Gillham, R. W., 1998. Long-term performance of an in situ "iron wall" for remediation of VOCs. *Ground Water*, 36: 164—170.
- Orth, W. S., Gillham, R. W., 1996. Dechlorination of trichloroethene in aqueous solution using Fe⁰. *Environ. Sci. Technol.*, 30: 66—71.
- Schollhorn, A., Savary, C., Gerhard, S., et al., 1997. Comparison of different substrates for the fast reductive dechlorination of trichloroethene under groundwater conditions. *Wat. Res.*, 31: 1275—1282.
- Tandol, V., DiStefano, T. D., Bowser, P. A., et al., 1994. Reductive dehalogenation of chlorinated ethenes and halogenated ethanes by a high-rate anaerobic enrichment culture. *Environ. Sci. Technol.*, 28: 973—979.
- Vogel, T. M., McCarty, P. L., 1985. Biotransformation of tetrachloroethylene to trichloroethylene, dichloroethylene, vinyl chloride and carbon dioxide under methanogenic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49: 1080—1083.
- Yang, L., Chang, Y. F., Chou, M. S., 1999. Feasibility of bioremediation of trichloroethylene contaminated sites by nitrifying bacteria through cometabolism with ammonia. *Journal of Hazardous Materials*, B69: 111—126.

附中文参考文献

- 刘菲, 钟佐葵, 2001. 地下水中氯代烃的格栅水处理技术. 地学前缘, 8(2): 309—314.