

М.М. Скринник, М.В. Милокин

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОПЛАНАРНЫХ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ В БИОТЕ БАССЕЙНА ДНЕПРА МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ / МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Определены концентрации копланарных полихлорированных бифенилов ПХБ в мышечных тканях рыб бассейна Днепра. Рассчитаны вклады ПХБ в величину токсичности в эквиваленте 2,3,7,8-тетрахлор-*n*-дибензодиоксиана.

ВВЕДЕНИЕ. Полихлорированные бифенилы (ПХБ) являются стойкими загрязняющими веществами (СОЗ) антропогенного происхождения. Их отличительные свойства — высокая токсичность и устойчивость к разложению под действием физико-химических и биологических природных факторов — обуславливают большой интерес к определению этих соединений в объектах окружающей среды и продуктах питания. ПХБ представляют угрозу для водных экосистем, в которых они способны накапливаться в донных отложениях и тканях гидробионтов. В организм человека они попадают в основном с питьевой водой и продуктами питания. Эти соединения обладают общетоксическим и канцерогенным действиями. Вследствие липофильности они способны аккумулироваться в липидных тканях живых организмов, концентрироваться по трофической цепи и, в конечном итоге, накапливаться в организме человека и вызывать различные тяжелые заболевания. Ситуация значительно усугубляется возможными синергическими эффектами за счет совместного воздействия СОЗ и тяжелых металлов, радионуклидов и других менее токсичных химических веществ на живые организмы.

Систематические данные относительно идентификации ПХБ и об уровнях их содержания в водных системах (вода, донные отложения, биота) весьма ограничены. Данных, полученных высокоэффективными и высокоинформативными физико-химическими методами анализа, например методом хромато-масс-спектрометрии, в Украине практически нет.

Определение ПХБ в водных системах занимает важное место в аналитической химии объектов окружающей среды. Требования к анализам во многих ведущих странах мира пересмотрены в сторону ужесточения — понижения пределов обнаружения. Возросшие требования привели к использованию для этих целей новых методических

подходов и методологий и нового высокочувствительного, селективного и надежного хроматографического и хромато-масс-спектрометрического оборудования.

Считаем, что проблемы аналитической химии объектов окружающей среды, в частности, водных систем — выделение, концентрирование, идентификация и определение этих соединений на уровне наноконцентраций и ниже — в тесной связи с экологической безопасностью и жизнедеятельностью живых организмов (оценкой токсичности) — являются актуальными.

В Украине имеется некоторый опыт в определении ПХБ [1—12]. В Национальной академии наук Украины разработана методология исследования и проведен систематический мониторинг ПХБ в природных и питьевых водах бассейна Днепра [3—7]. Для более полной оценки угрозы для человека и данной водной экосистемы, которую представляют ПХБ, по разработанной методологии выполнено исследование мышечной ткани рыб и получены достоверные результаты о содержании этих соединений [9]. В работе [10] показано препаративное выделение копланарных ПХБ из мышечной ткани рыбы бассейна Днепра методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Из соединений данного класса к самым токсичным относят копланарные ПХБ. Потребление рыбы в пищу — один из основных источников попадания диоксиноподобных веществ в организм человека. В водных экосистемах вклад копланарных ПХБ в общую токсичность в диоксиновом эквиваленте превосходит вклад полихлорированных дибензо-*n*-диоксинов (ПХДД) и дибензофуранов (ПХДФ) вместе взятых [13—16]. Хотя индексы эквивалентной токсичности копланарных ПХБ на порядки ниже, чем ПХДД и ПХДФ [17], их концентрация в тканях гидробионтов и донных отложениях существенно выше и достигает

Т а б л и ц а 1

Концентрация копланарных ПХБ в мышечной ткани рыб бассейна Днепра

Изомеры ПХБ	Концентрации ПХБ в пробах, мкг/кг мокрого веса						
	1	4	7	8	9	11	15
3,4,4',5-тетра (1)	1.0	2.8	2.2	2.5	0.8	6.6	3.0
3',3',4,4'-тетра (2)	35.2	49.8	52.9	45.1	31.9	133.2	62.5
2',3,4,4',5-пента (3)	6.0	9.4	10.2	8.6	5.5	26.5	11.1
2,3,4,4',5-пента (4)	8.7	8.8	9.6	10.0	9.3	29.3	14.2
3,3',4,4',5-пента (5)	0.3	0.9	0.7	0.6	0.4	2.0	0.9
2,3',4,4',5,5'-гекса (6)	0.9	1.1	1.5	2.0	0.7	4.7	2.8
2,3,3',4,4',5'-гекса+2,3,3',4,4',5-гекса (7)	3.0	5.2	5.5	5.4	3.5	17.4	7.6
3,3',4,4',5,5'-гекса (8)	<0.10	<0.10	0.1	0.1	<0.10	0.3	0.2
2,3,3',4,4',5,5'-гепта (9)	<0.10	0.1	0.2	0.1	0.4	0.3	0.3

уровня значений (ppb) (мкг/кг) мокрого веса. Их вклад в общую диоксиновую токсичность в тканях гидробионтов может составлять 80 %. Остальные 20 % приходятся на долю ПХДД и ПХДФ. Токсичность 12 копланарных ПХБ на порядки превосходит токсичность всех остальных изомеров и родственных соединений (congeners). Среди копланарных ПХБ наибольший вклад в величину токсичности (до 99 %) обычно вносят изомеры — 3',3',4,4'-тетра-, 3,3',4,4',5-пента- и 3,3',4,4',5,5'-гексахлорбифенилы [14, 15, 17]. Первый из них, обладая относительно низкой токсичностью, встречается в окружающей среде в высоких концентрациях, второй — самый токсичный, как правило, вносит больше половины суммарной токсичности ПХБ [14, 15]. На более высоких уровнях пищевой цепи соотношение может быть другим из-за неодинаковой скорости метаболизма изомеров в разных живых организмах [13].

Из изложенного материала следует, что определение копланарных ПХБ в объектах окружающей среды представляет аналитический интерес. Данные о содержании этих соединений в бассейне Днепра отсутствуют.

Цель работы — идентификация и определение концентрации копланарных ПХБ в биоте (мышечной ткани рыбы) бассейна Днепра.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ. В работе использовали образцы мышечной ткани рыб, отловленных в бассейне Днепра. Определение копланарных ПХБ проводили в образцах биоты, содержащих наиболее высокую общую концентрацию ПХБ (табл. 1) [9]. Экстракция ПХБ из образцов и препаративное выделение общей фракции ПХБ

проведены по методике, описанной в работах [8, 9]. Препаративное выделение копланарных ПХБ из экстрактов, а также оценка открываемости анализов выполнены по методике, приведенной в [10].

Определение копланарных ПХБ в пробах биоты проводили методом хромато-масс-спектрометрии (ХМС) в следующих условиях: газовый хроматограф Agilent Technologies GC6890N с масс-селективным детектором MSD5975 Inert XL и автоинжектором Autoinjector 7683B.

Хроматографические условия работы прибора: колонка фирмы Agilent Technologies — HP-5MSI, длина — 30 м, внутренний диаметр — 0.25 мм, степень покрытия — 0.25 мкм; газ-носитель — He, 1 см³/мин при температурной коррекции расхода газа-носителя; температурный режим — изократический период при 60 °С — 1 мин, градиент температуры 60 → 300 °С со скоростью 6 °С/мин и 20 мин — изократический период при 300 °С; объем вводимой пробы — 1 мкл без деления потока, через 1 мин — деление потока 1:50.

Масс-спектрометрические условия работы прибора: параметры детектора — режим SIM при детектировании ионов ПХБ с m/z 290, 292, 294, 324, 326, 328, 358, 360, 362, 392, 394, 396 при ионизации электронным ударом (70 эВ).

Идентификацию ПХБ проводили по временам удерживания и по характеристическим ионам с использованием электронной библиотеки масс-спектров Wiley 275, а также по соответствию соотношений интенсивностей ионов M^{+} , $[M+2]^{+}$, $[M+4]^{+}$ полученных масс-спектров [4, 5] теоретическим рассчитанным соотношениям [18].

Концентрацию целевых соединений определя-

ли по соотношениям интенсивностей характеристических ионов этих соединений на хроматограммах калибровочных растворов к их интенсивностям на хроматограммах испытуемых растворов. Концентрацию ПХБ рассчитывали как среднее значение, полученное по 12 приведенным характеристическим ионам.

Эквивалентную токсичность вычисляли как сумму произведений концентраций индивидуальных ПХБ на их индексы эквивалентной токсичности [17].

Калибровку ХМС выполняли по метанольным растворам следующих 10 стандартных образцов в диапазоне концентраций 5—500 мкг/л: 3,4,4',5-тетрахлорбифенил (RPC-096S), 3,3',4,4'-тетрахлорбифенил (RPC-036S), 2',3,4,4',5-пентахлорбифенил (RPC-156S), 2,3',4,4',5,5'-гексахлорбифенил (RPC-100S), 2,3,4,4',5-пентахлорбифенил (RPC-108S), 3,3',4,4',5-пентахлорбифенил (RPC-102S), 2,3,3',4,4',5-гексахлорбифенил (RPC-164S), 3,3',4,4',5,5'-гексахлорбифенил (RPC-90S), 2,3,3',4,4',5-гексахлорбифенил (RPC-055S), 2,3,3',4,4',5,5'-гептахлорбифенил (RPC-137S) (номера по каталогу Ultra Scientific, 2001 г). Нижний предел обнаружения метода составил для тетра- и пентахлорбифенилов и гекса- и гептахлорбифенилов соответственно 0.05 и 0.10 мкг/кг мокрого веса мышечной ткани рыб.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Результаты определения копланарных ПХБ в образцах биоты, содержащих наиболее высокую общую концентрацию ПХБ [9], представлены в табл. 1.

Выделение фракции копланарных ПХБ методом микропрепаративной ВЭЖХ [10] позволило надежно идентифицировать и количественно определить 10 из 12 копланарных ПХБ в образцах мышечной ткани рыб, включая 4 неорто-замещенных ПХБ — самых токсичных для человека и/или животных. Хроматограммы

образцов мышечной ткани до и после препаративного выделения копланарных ПХБ, показаны на рис. 1.

В приведенных условиях хроматографирования копланарные ПХБ имеют времена удерживания несколько большие, чем большинство их изомеров с тем же числом атомов хлора в молекуле. Поскольку 2,3,3',4,4',5'- и 2,3,3',4,4',5-гексахлорбифенилы элюируются одним пиком, в расчетах учитывали их суммарное содержание. Эти изомерные

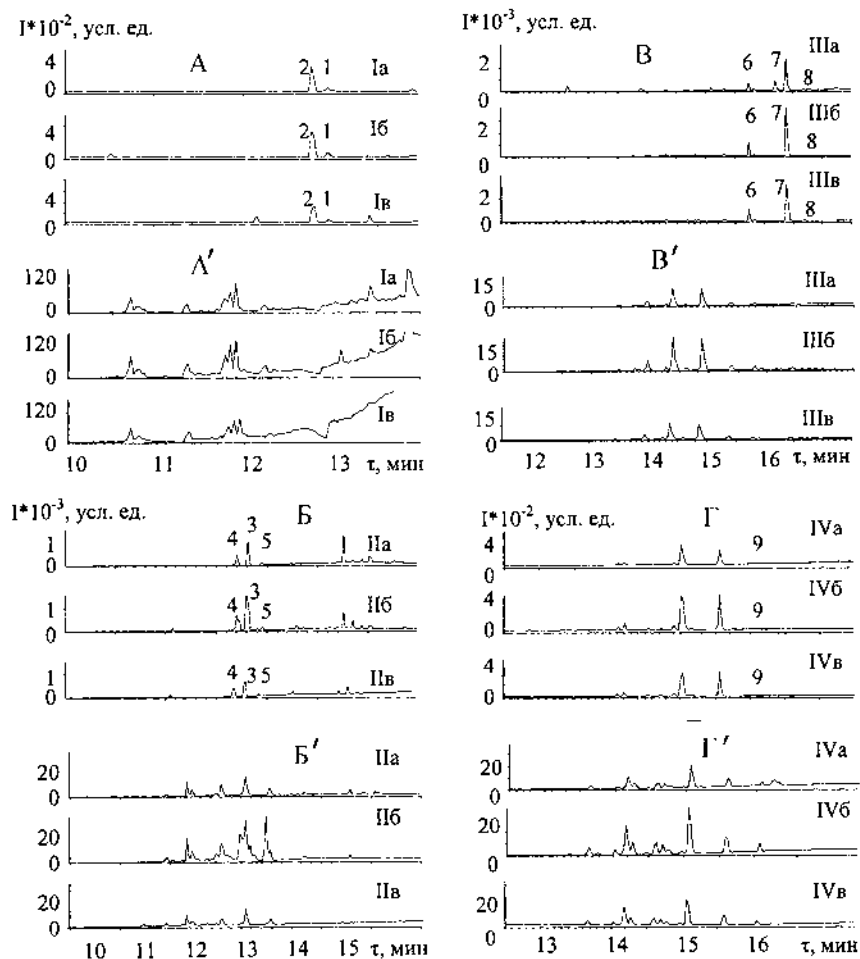


Рис. 1. Реконструированные хроматограммы (экстракты из ТИС, режим SIM) образца 11 мышечной ткани рыб, очищенного методом препаративного выделения копланарных ПХБ (А, Б, В, Г) и олеумом (А', Б', В', Г'), по характеристическим ионам M^{+} , $[M+2]^{+}$, $[M+4]^{+}$ с m/z 290 (Ia), 292 (Iб), 294 (Iв) тетрахлорбифенилов; 324 (IIa), 326 (IIб), 328 (IIв) пентахлорбифенилов; 358 (IIIa), 360 (IIIб), 362 (IIIв) гексахлорбифенилов; 392 (IVa), 394 (IVб), 396 (IVв) гептахлорбифенилов. I–IV — временные окна, в которых идентифицированы соответственно тетра-, пента-, гепта- и гексахлорбифенилы в модельных смесях ПХБ. 1–9 — обозначения индивидуальных копланарных ПХБ соответствуют табл. 1.

соединения имеют одинаковый индекс эквивалентной токсичности.

Балластные тетрахлорбифенилы удалены из анализируемых образцов до концентраций ниже предела обнаружения метода. На хроматограммах присутствуют только пики двух целевых копланарных тетрахлорбифенилов. Некопланарные пента- и гексахлорбифенилы присутствуют в невысоких концентрациях. В результате препаративного выделения нагрузку этих балластных веществ уменьшили в 10—20 раз. Мешающее влияние некопланарных ПХБ на определение целевых соединений сведено к минимуму. Нецелевые гептахлорбифенилы присутствовали в анализируемой фракции в более высоких концентрациях, однако существенно не мешают определению копланарного 2,3,3',4,4',5,5'-гептахлорбифенила.

Во всех проанализированных образцах мышечной ткани рыб методом ХМС идентифицированы копланарные ПХБ, определены их концентрации и рассчитаны вклады каждого из них в общую токсичность для человека в эквиваленте токсичности 2,3,7,8-тетрахлор-*n*-дibenзодидоксина (2,3,7,8-ТХДД) (табл. 1, 2).

Т а б л и ц а 2

Общая концентрация ПХБ в пробах мышечной ткани рыб и токсичность для человека копланарных ПХБ в пересчете на токсичность 2,3,7,8-ТХДД

Проба	C_o^*	γ^{**}	Проба	C_o	γ
	мкг/кг мокрого веса			мкг/кг мокрого веса	
1	2300	0.04	9	2336	0.05
4	5482	0.10	11	13486	0.24
7	4812	0.09	15	6109	0.11
8	3752	0.07			

* C_o — общая концентрация ПХБ; ** γ — токсичность в диоксиновом эквиваленте.

Из данных, представленных в табл. 1, видно, что во всех образцах в наибольшей концентрации присутствует 3,3',4,4'-тетрахлорбифенил. На рис. 2 представлена диаграмма для пробы 15, на которой концентрация копланарных ПХБ и вклад каждого из них в токсичность в диоксиновом эквиваленте выражены в процентах. Несмотря на невысокую концентрацию, наибольший вклад в общую токсичность вносит 3,3',4,4',5-пен-

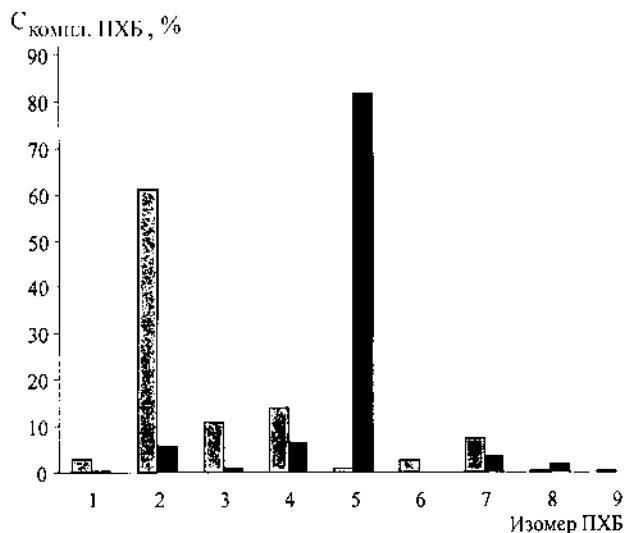


Рис. 2. Концентрация (серый цвет) ($C_{\text{копл. ПХБ}}$, %) и вклад в токсичность (черный цвет) изомеров ПХБ 1–9 в пробе 15 в процентном выражении (нумерация соединений соответствует табл. 1).

тахлорбифенил из-за высокого фактора эквивалентной токсичности этого соединения (0.1). Изомерные соединения — 3,3',4,4',5,5'-гекса- и 2,3,3',4,4',5,5'-гептахлорбифенилы присутствуют в невысоких концентрациях и не выявлены в некоторых пробах, вклад в токсичность первого из них ощутим даже в малой концентрации из-за высокого эквивалента токсичности (0.01), а второго — ничтожно мал. Такая картина типична для всех исследованных проб.

Наиболее высокие концентрации копланарных ПХБ и их токсичности в диоксиновом эквиваленте обнаружены в образцах с высокими общими концентрациями ПХБ — в Каневском, Киевском и Кременчугском водохранилищах (пробы 11, 15 и 4).

ВЫВОДЫ. В образцах мышечной ткани рыб из бассейна Днепра методом ХМС определены 10 копланарных ПХБ и рассчитаны их токсичности в диоксиновом эквиваленте. Метод препаративного выделения этих соединений из экстрактов мышечной ткани апробирован на модельных системах и применен к исследованию реальных образцов биоты водных систем.

РЕЗЮМЕ. Визначено концентрації копланарних поліхлорованих біфенілів ПХБ у м'язових тканинах риб басейну Дніпра. Розраховано вклади ПХБ у величину токсичності в еквіваленті 2,3,7,8-тетрахлор-*n*-дibenзодидоксину.

SUMMARY. Concentrations of coplanar polychlorinated biphenyls in the samples of fish muscle tissue from Dnieper river basin determined and their contribution in toxicity value converted into 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin equivalent.

1. *Клисенко М.А., Калинина А.А., Новикова К.Ф., Хохолькова Г.А.* Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде: Справочник. -М.: Колос, 1992. -Т. 1.
2. *Клисенко М.А., Калинина А.А., Новикова К.Ф., Хохолькова Г.А.* Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде: Справочник. -М.: Агропромиздат, 1992. -Т. 2.
3. *Goncharuk V.V., Milyukin M.V.* // Bioavailability of Organic Xenobiotics in the Environment (Practical Consequences for the Environment) / Ed. by Ph. Baveye, J.-C. Block, V.V. Goncharuk. - NATO ASI Ser.: 2. Environment. -Vol. 64. -Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academ. Publ., 1999. -P. 35—56.
4. *Милюкин М.В.* // Укр. хим. журн. -2003. -**69**, № 7. -С. 43—51.
5. *Milyukin M.V.* // Role of interfaces in Environmental Protection / Ed. by S. Barany. -NATO Science Ser.: IV. Earth and Environmental Sciences. -Vol. 24. -Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academ. Publ., 2003. -P. 103—120.
6. *Милюкин М.В.* // Укр. хим. журн. -2005. -**71**, № 10. -С. 93—104.
7. *Милюкин М.В.* // Экологические аспекты современных технологий охраны водной среды / Под

ред. В.В. Гончарука. -Киев: Наук. думка, 2005. -С. 306—321, 388—389.

8. *Скринник М.М., Милюкин М.В.* // Методы и объекты химического анализа. -2006. -**1**, № 2. -С. 152—158.
9. *Скринник М.М., Милюкин М.В.* // Укр. хим. журн. -2007. -**73**, № 10. -С. 105—109.
10. *Скринник М.М., Милюкин М.В.* // Там же. -2007. -**73**, № 12. -С. 97—104.
11. *Скринник М.М., Милюкин М.В.* // Тез. доп. Міжнарод. конф. “Хроматографічні методи аналізу органічних сполук”, присвяченої 100-річчю з дня народження чл.-кор. АН України М.А. Ізмайлова (4—7 вересня, 2007, Київ). -Київ, 2007. -С. 38.
12. *Милюкин М.В., Терлецькая А.В., Воробьева Т.В., Скринник М.М.* // Реф. докл. II Международ. форума “Аналитика и аналитики” (22—26 сентября, 2008, Воронеж, Россия). -Воронеж, Воронеж. гос. технол. акад., 2008. -Т. 2. -С. 381.
13. *Dewailly E., Ryan J.J., Laliberte C. et al.* // Environ. Health Perspect. Suppl. -1994. -**102**. -P. 205—209.
14. *Hong C.S., Bush B., Xiao J.* // Ecotoxicol. Environ. Saf. -1992. -**23**, № 1. -P. 118—131.
15. *Tanabe S., Kannan N., Subramanian A. et al.* // Environ. pollution. -1987. -**47**, № 2. -P. 147—163.
16. *Takayama K., Miyata H., Mimura M., Kashimoto T.* // Eisei Kagaku. -1991. -**37**, № 2. -P. 125—131.
17. *Van den Berg M., Birnbaum L., Bosveld A.T.C. et al.* // Environ. Health Perspect. -1998. -**106**, № 12. -P. 775—792.
18. *Зенкевич И.Г., Иоффе Б.В.* Интерпретация масс-спектров органических соединений. -Л.: Химия, 1986.

Институт коллоидной химии и химии воды
им. А.В. Думанского НАН Украины, Киев

Поступила 29.01.2010