

Никонова Алёна Александровна

**Определение полихлорированных бифенилов в природных
и биологических объектах Байкальской природной территории
с применением методов скоростной хроматографии
и масс-спектрометрии**

Специальность 02.00.02 – аналитическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Работа выполнена в Учреждении Российской академии наук Лимнологического института Сибирского отделения РАН

Научный руководитель:

кандидат химических наук,
доцент

Горшков Александр Георгиевич

Официальные оппоненты:

доктор химических наук, доцент

Папина Татьяна Савельевна

кандидат химических наук

Чебыкин Евгений Павлович

Ведущая организация:

Учреждение Российской академии наук Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН

Защита состоится 22 февраля 2012 г. в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 212.074.03 при Иркутском государственном университете по адресу: г. Иркутск, ул. Лермонтова, 126, химический факультет, ауд. 430.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Иркутского государственного университета.

Отзывы на автореферат в 2-х экземплярах с подписью составителя, заверенные печатью организации, просим направлять на имя секретаря диссертационного совета по адресу: 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1, ИГУ, химический факультет.

Автореферат диссертации разослан 17 января 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
д.х.н., профессор

Белых Л.Б.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Полихлорированные бифенилы (ПХБ) являются одними из наиболее распространенных загрязнителей окружающей среды. Первые данные о присутствии ПХБ в озере Байкал (1985 г.) [1, 2] свидетельствовали о фоновом уровне их содержания, а при выполнении ряда международных проектов в 90-х годах [3–8] были сделаны предположения о наличии локальных источников ПХБ на Байкальской природной территории (БПТ). Учитывая статус Байкала как участка мирового природного наследия ЮНЕСКО и необходимость проведения систематических исследований ПХБ на БПТ, разработка экспрессных методик для их мониторинга является актуальной задачей.

Многокомпонентность природных аккумулялирующих матриц и присутствие в них сложных смесей ПХБ на следовом уровне концентраций обуславливают трудности подготовки проб и анализа. Классическим способом экстракции ПХБ из природных и биологических образцов является экстракция в аппарате Сокслета [9] с последующей очисткой экстрактов методом колоночной адсорбционной [10, 11, 12] или гель-проникающей [13] хроматографии. Основными недостатками данных методов являются длительность (до 40 ч) и неэкономичность. Тенденция развития методов газовой хроматографии (ГХ) ПХБ с целью надежной регистрации максимального числа пиков конгенов, в том числе индикаторных и наиболее токсичных, заключалась в синтезе новых фаз и увеличении длины колонок. При этом разделение на стандартных колонках длиной 30–60 м продолжительно и составляет 25–150 мин [14, 15, 16, 17] в зависимости от целей исследования. Скоростная¹ газовая хроматография (ГХ) ПХБ, реализованная на небольших капиллярных колонках длиной 0.5–10 м и внутренним диаметром 0.1–0.5 мм, как на рутинном, так и на специальном оборудовании, обеспечивает их скрининговое определение в трансформаторных маслах, природных пробах с относительно простым составом матрицы и разделение стандартных смесей (до 20 конгенов) [18–25]. Данный метод не получил должного применения в практике по причине недостаточной разрешающей способности. Развитие метода скоростной ГХ открывает возможность разработки экспрессных методик для системы экологического мониторинга стойких органических загрязняющих веществ в объектах окружающей среды.

Цель работы заключалась в разработке методики определения индикаторных конгенов ПХБ, групп конгенов с одинаковой степенью хлорирования и суммарного содержания всех обнаруженных конгенов ПХБ ($\Sigma(\text{ПХБ})$) в природных и биологических объектах с применением метода скоростной газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

1. разработка оптимального режима скоростной хроматографии ПХБ с их детектированием методом масс-спектрометрии низкого разрешения (ГХ-МСНР) с использованием рутинного оборудования;

¹ Под традиционной хроматографией понимается хроматография, обеспечивающая получение пиков аналитов с величиной ширины аналитических пиков на $\frac{1}{2}$ высоты $\mu_{0.5}$ от 5 до 30 с, под скоростной – хроматография, соответствующая принципам скоростной хроматографии [18–20], в частности, обеспечивающая величину $\mu_{0.5}$ от 1 до 3 с [25].

2. оптимизация процедуры подготовки проб природных и биологических образцов для определения ПХБ методом газовой хроматографии;
3. оценка метрологических характеристик методики – повторяемости, внутрилабораторной прецизионности и правильности;
4. применение методики при определении ПХБ в природных и биологических объектах Байкальской территории.

Научная новизна.

1. Разработана методика определения ПХБ методом скоростной газовой хроматографии на стандартных капиллярных колонках длиной 30 м с карборановой фазой в условиях резкого градиента температуры от 80 до 320 °С (40 °С/мин) с масс-спектрометрическим детектированием.
2. Предлагаемый вариант газовой хроматографии характеризуется сокращением времени элюирования фракции ПХБ до 3 мин, увеличением отношений сигнал/шум до 10 раз, снижением пределов обнаружения аналитов и повышает эффективность подготовки проб на стадии экстракции и очистки экстрактов.
3. Показана возможность определения индикаторных конгенов № 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180, а также суммарного содержания ПХБ и групп конгенов с равной степенью хлорирования в природных и биологических объектах в условиях скоростной газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

Практическая значимость. Подтверждена пригодность методики для экологического мониторинга ПХБ с определением их суммарного содержания, групп конгенов с равной степенью хлорирования и индикаторных конгенов. Дана оценка современного уровня накопления ПХБ в природных и биологических объектах Байкальской природной территории: в почве, твердой взвеси снеговой воды, воде и донных отложениях Байкала и его притоков, в зоопланктоне *Epischura baicalensis* и *Macrohectopus branickii*, в мышцах байкальского омуля *Coregonus migratorius* (Georgi, 1775) и подкожном жире байкальского тюленя *Phoca sibirica* Gm.

Работа проведена в рамках программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2008-2012 гг. Направление фундаментальных исследований VII.62. Динамика и охрана подземных и поверхностных вод, ледники, проблемы водообес-печения страны. Проект VII.62.1.3. Комплексный экологический аудит Байкальской природной территории и экосистемы озера Байкал – участка мирового природного наследия (№ гос. рег. 01201052127).

На защиту выносятся следующие положения:

1. Определение ПХБ в природных и биологических объектах методом скоростной газовой хроматографии на стандартных капиллярных колонках длиной 30 м с масс-спектрометрическим детектированием возможно и обеспечивает высокую экспрессность, увеличение чувствительности до 10 раз и регистрацию пиков индикаторных конгенов № 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180.
2. Оптимизирована подготовка проб, включающая ультразвуковую экстракцию аналитов из природных объектов, щелочной гидролиз и жидкость-жидкостную экстракцию ПХБ из биологических объектов и

сорбционную очистку экстрактов на компактных патронах с силикагелем и флорисилом и характеризующаяся экспрессностью и экономичностью.

3. Экспрессная методика определения суммарного содержания ПХБ, групп конгенов с равной степенью хлорирования и индикаторных конгенов с применением метода скоростной газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием в режиме выбранных ионов.
4. Результаты определения ПХБ в природных и биологических объектах Байкальской природной территории.

Апробация работы. Результаты исследований докладывались на региональных, всероссийских и международных конференциях: «IV Верещагинской Байкальской конференции» (Иркутск, 2005); на международном конгрессе «International Congress on Analytical Sciences ICAS-2006» (Moscow, 2006); Всероссийском симпозиуме «Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях» (Москва, 2007); «VI Международном симпозиуме «Контроль и реабилитация окружающей среды» (Томск, 2008); Научно-практической конференции «Состояние и проблемы искусственного воспроизводства рыбных запасов Байкальского региона» (Улан-Удэ, 2008); VIII научной конференции «Аналитика Сибири и Дальнего Востока» (Томск, 2008); III Всероссийской конференции по водной токсикологии, посвященной памяти Б.А. Флерова «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы» (Борок, 2008); Международной научной конференции молодых ученых «Молодежь в науке – 2009» (Минск, 2009); VII Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2009» (Йошкар-Ола, 2009); Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (Краснодар, 2010); Международной «V Верещагинской байкальской конференции» (Иркутск, 2010), IV Международной научной конференции «Озерные экосистемы: биологические процессы, антропогенная трансформация, качество воды» (Минск, 2011).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 15 работ, из них 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

Личный вклад автора. Автором проведены экспериментальные исследования, осуществлен поиск, перевод и систематизация литературного материала. Разработка плана исследования, интерпретация полученных результатов, подготовка публикаций выполнены совместно с научным руководителем.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, 3 глав оригинальных исследований, библиографии и 1 приложения. Работа изложена на 143 страницах машинописного текста, содержит 34 рисунка и 41 таблицу. Список литературы включает 163 наименования.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В главе 1 «Загрязнение природных сред и биологических объектов полихлорированными бифенилами и методы их определения. Обзор.» рассмотрены основные физико-химические и токсикологические свойства ПХБ и технических продуктов на их основе, пути поступления и уровни их содержания в объектах окружающей среды. Дана критическая оценка

существующих методов определения ПХБ. Обоснована важность проведения экологического мониторинга ПХБ на Байкальской природной территории и разработки с этой целью оптимизированных методик.

В главе 2 «Материалы и методы» описаны использованные реактивы, оборудование, средства измерений и условия подготовки проб и проведения анализа.

Подготовка образцов к анализу. Снег таяли, снеговую воду фильтровали через мембранные фильтры «Advantec» 0.45 мкм, Ø 47 мм (Toyo Roshi Kaisha Ltd, Япония). Осадок на фильтре высушивали до постоянного веса, снимали с фильтра и гомогенизировали. Пробы почвы высушивали, просеивали через сита (400 mesh) и гомогенизировали. Высушенные до постоянного веса донные осадки гомогенизировали. Мышечную ткань рыбы, тюлений жир, биомассу зоопланктона гомогенизировали и хранили при $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ до анализа.

Экстракция ПХБ. Непосредственно перед проведением подготовки проб в материал навесок исследуемых образцов с помощью микрошприцов вместимостью 0.05 мл добавляли 0.025 мл суррогатного стандарта 4,4'-дибромдифенила (0.006 мг/мл, Supelco, США). ПХБ из высушенной взвеси снеговой воды (~0.25 г), почвы и донных отложений (~7 г) экстрагировали смесью растворителей *n*-гексан:ацетон (1:1 по объему) объемом 5 мл, 10 мл и 10 мл соответственно в ультразвуковой ванне «Сапфир» с рабочей частотой 35 кГц (Россия) 5 мин. Экстракцию проводили дважды. Полученные экстракты объединяли, центрифугировали с использованием центрифуги ОС-6М (ТУ 5.375-4263-80), концентрировали на роторном испарителе «IKA®-WERKE» (GMBH&CO. KG., Германия) при температуре 40 °С до объема ~ 0.5 мл. Концентрат перерастворяли в *n*-гексане, отделяли нерастворимые компоненты центрифугированием с использованием центрифуги «MiniSpin» (Eppendorf, Германия). Супернатант концентрировали в токе аргона до объема ~ 0.25 мл. Жидкость-жидкостную экстракцию ПХБ из байкальской воды (~ 17 л) проводили порциями по 2 л, экстрагируя аналиты 150 мл *n*-гексана, который использовали многократно для экстракции всего объема пробы. Экстракт концентрировали на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С до объема 0.5 мл и затем в токе аргона до объема ~ 0.15 мл.

Образцы мышц байкальского омуля (~1 г), зоопланктона (~5 г) и жира байкальской нерпы (~0.03 г) гидролизovali в 25 мл 10 %-го раствора КОН в 90 %-м MeOH на водяной бане с обратным холодильником при температуре кипения смеси в течение 10 мин до полного растворения тканей. Гидролизный раствор разбавляли 70 мл дистиллированной воды, добавляли 7 г NaCl. ПХБ экстрагировали 15 мл *n*-гексана дважды по 5 мин. Экстракты объединяли, промывали дистиллированной водой, сушили над безводным Na₂SO₄, концентрировали на роторном испарителе при температуре 40 °С до объема 0.5 мл, затем в токе аргона до объема 0.25 мл.

Выделение фракции ПХБ на патронах.

Сконцентрированные экстракты природных объектов наносили на патрон с силикагелем «Discovery® SPE DSC-Si» с массой сорбента 0.5 г (Supelco, Швейцария). ПХБ элюировали 2 мл *n*-гексана. Сконцентрированные экстракты биологических объектов наносили на патрон с флорисилом «Sep-Pac® Vac бсс» с массой сорбента 0.5 г (Waters, США). ПХБ элюировали 2 мл *n*-гексана.

Полученные элюаты концентрировали в токе аргона при температуре 40 °С до объема 0.1 мл и переносили в микропробирку для хроматографа объемом 0.25 мл. Патроны регенерировали последовательной промывкой метанолом (5 мл), ацетоном (5 мл) и *n*-гексаном (5 мл).

Анализ фракций ПХБ. К пробам добавляли 0.01 мл хроматографического стандарта 4-бромбифенила (0.01 г/мл, Fluka, Швейцария) и анализировали на хроматомасс-спектрометре «Agilent GC 6890, MSD 5973N» (Agilent, США) при следующих условиях: колонка «НТ-8», 30 м, Ø 0.25 мм (SGE Inc., Austin, TX, США); температурный режим: от 80 до 310 °С (40°С/мин), от 310 до 320°С (2°С/мин); температура инжектора 290°С, температура квадруполя 150°С, энергия ионизации 70 эВ; объем вводимого в колонку образца 3 мкл в режиме без деления потока. Детектирование пиков ПХБ и стандартов проводили в режиме выбранных ионов (*m/z* 256, 258, 290, 292, 326, 328, 360, 362, 394, 396, 312, 232) одновременно. Пики ПХБ на масс-хроматограммах идентифицировали по относительным временам удерживания и отношениям площадей пиков изотопных молекулярных ионов. Для оценки «окон» времен удерживания конгенов с разной степенью хлорирования хроматографировали стандартные растворы смесей ПХБ: «Арохлор 1016», «Арохлор 1248», «Арохлор 1254», «Арохлор 1262» (Supelco, Швейцария), ГСО 7821–2000 состава «Совол» в режиме полного сканирования масс-спектра. Количественное определение ПХБ проводили по методу внутреннего стандарта, в качестве которого использовали 4,4'-дибромбифенил. Калибровочные зависимости для определения сумм ПХБ и групп ПХБ с одной степенью хлорирования были получены по аттестованным растворам смеси «ЕРА 525, 525.1 РСВ Мiх» (конгены ПХБ № 2, 5, 29, 47, 98, 155, 171, 201 согласно ИЮПАК, и для определения индикаторных конгенов – по аттестованным растворам смеси «СЕН РСВ congener mix 1» (№ 18, 28, 31, 44, 52, 101, 118, 137, 144, 153, 180, 194) (Supelco, США) от 0.1 до 100 нг/пик.

Глава 3. Оптимизация методики определения ПХБ в природных и биологических объектах с применением метода хроматомасс-спектрометрии.

Скоростная хроматография ПХБ с МС-детектированием. Колонки НТ-8 (1,7-дикарба-клозо-додекарборан фенилметилсилоксан) отличаются от «классических» DB-5 или HP-5 (5 %-фенил-, 95 %-метил-полисилоксан) высокой термической устойчивостью (максимально допустимая температура колонки 370 °С). Найдено, что термическая стабильность фазы НТ-8 позволяет проводить анализ проб в условиях резкого подъема температуры колонки от 80 до 320 °С со скоростью нагрева 40 °С/мин. Такой вариант температурного градиента позволяет сократить время хроматографической стадии до 10 мин.

На примере стандартных смесей ПХБ «Арохлор 1254» и «СЕН РСВ congener mix 1» показано, что в условиях резкого градиента температуры колонки продолжительность элюирования фракции ПХБ не превышает 3 мин и сохраняется высокая селективность карборановой фазы, достаточная для идентификации пиков индикаторных конгенов. При этом отсутствует значимое перекрытие интервалов времен удерживания групп конгенов с одной степенью хлорирования (рис. 1).

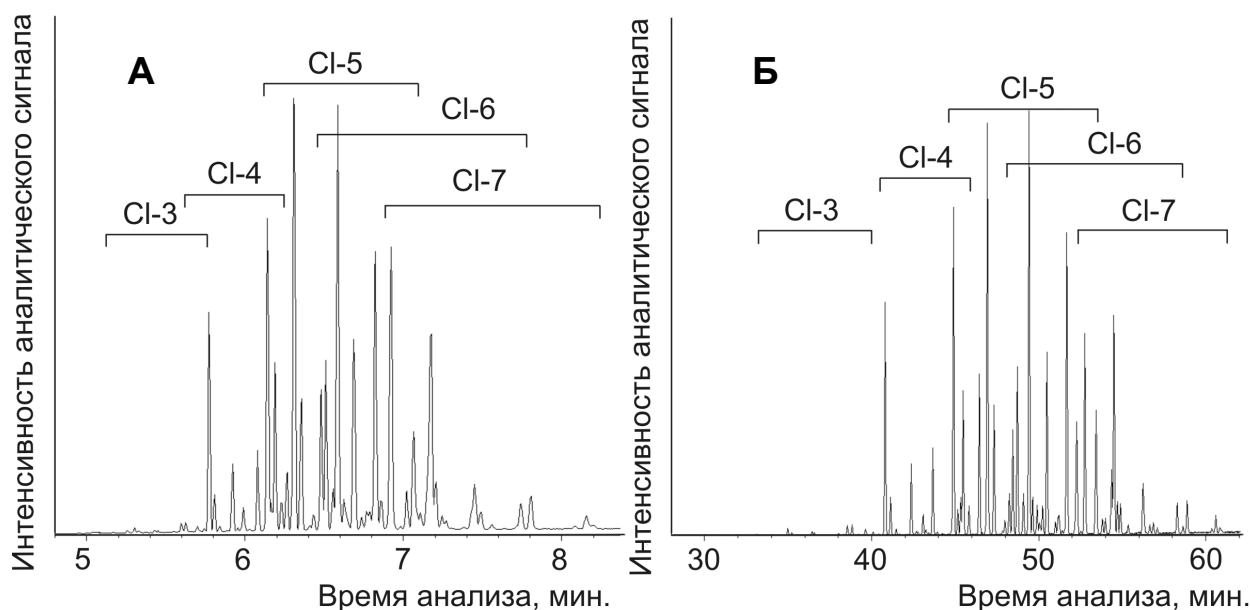


Рис. 1. Хроматография смеси ПХБ «Арохлор 1254» на колонке НТ-8 в условиях: А – скоростной ГХ (10 мин); Б – традиционной ГХ (80 мин). Регистрация полного ионного тока.

При резком градиенте температуры колонки временные интервалы, соответствующие выходу пиков ПХБ и определяющие значения $\mu_{0.5}$, сокращаются до 10 раз (при числе точек на пик ~ 100) по сравнению с традиционной хроматографией ПХБ, что приводит к соответствующему увеличению высоты пиков. Найдено, что скоростной режим хроматографии, реализуемый для индикаторных конгенов, компенсирует уменьшение отклика детектора при одновременном детектировании 12 ионов (режим мониторинга выбранных ионов), увеличивает отношение сигнал/шум (S/N) до 10 раз (табл. 1, рис. 2) и позволяет проводить быстрое определение сумм и групп конгенов.

Таблица 1
Величины $\mu_{0.5}$ и пределы обнаружения (ПО) индикаторных ПХБ

ПХБ №	Скоростная ГХ (10 мин)		Традиционная ГХ (80 мин)	
	$\mu_{0.5}$, с	ПО, пг/пик	$\mu_{0.5}$, с	ПО, пг/пик
28	1.02	2	4.5	8
52	0.89	2	4.0	2
101	1.02	1	4.8	9
118	1.08	1	6.6	9
138	1.08	2	9.0	10
153	0.72	2	8.9	13
180	1.38	5	7.2	20

Использование капиллярной колонки с размерами 30 м × 0.25 мм позволяет вводить в хроматограф до 3–5 мкл пробы. При эффективности колонки не менее 100000 теоретических тарелок эта возможность имеет принципиальное значение для определения следовых количеств ПХБ. Таким

образом, условия скоростной хроматографии позволяют не только уменьшить время хроматографического анализа, но снизить предел обнаружения ПХБ, проводить определение аналитов в экстрактах природных матриц на более низком уровне концентраций с применением эффективных способов подготовки пробы.

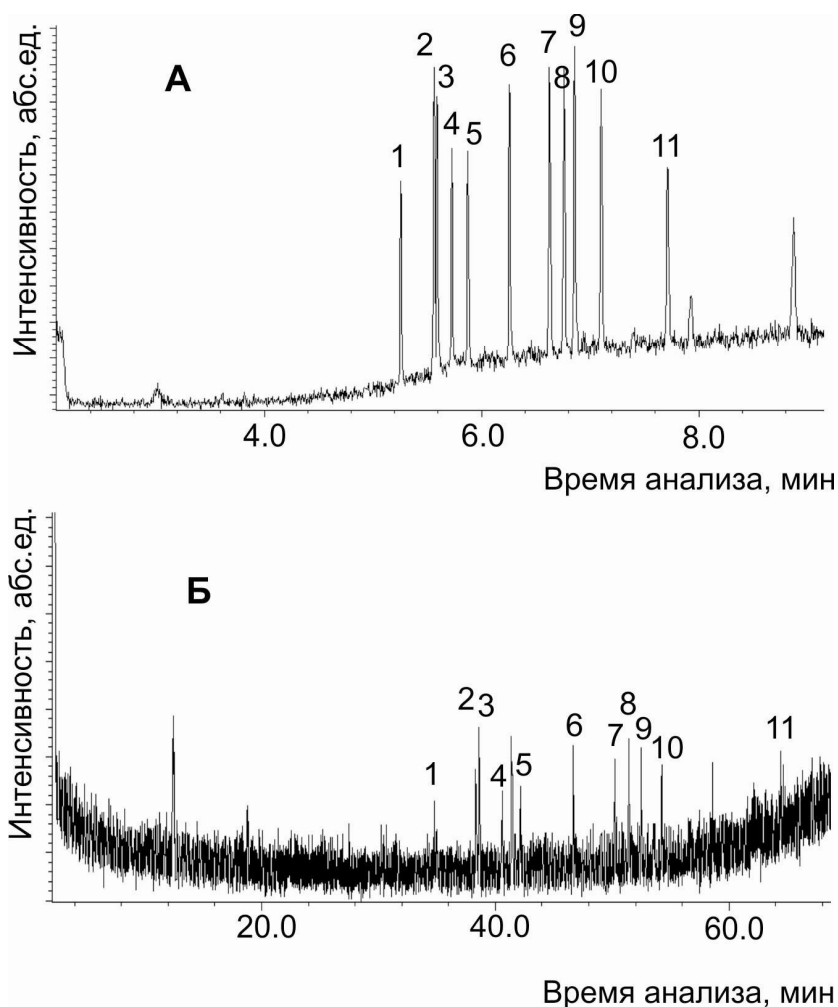


Рис. 2. Хроматограммы стандартной смеси ПХБ «CEN PCB Congener mix 1» в *n*-гексане ($C=2$ пг/мкл каждого), полученные в режимах: А – скоростной хроматографии; Б – традиционной хроматографии. Пики №№ 1–11 по порядку: конгены ПХБ №№ 28, 31, 52, 44, 101, 4,4'-дибромбифенил, 144, 118, 153, 138, 180.

Оптимизация стадий подготовки проб. Найдено, что при экстракции ПХБ из твердых матриц (5–7 г почвы, 10–12 г донных отложений, 0.03–0.5 г твердой взвеси снеговой воды) смесью *n*-гексана с ацетоном (1:1 по объему) при облучении ультразвуком в течение 10 мин степень извлечения аналитов из матрицы составляет не менее 80 %. Подобный вариант экстракции обеспечивает уменьшение времени данной стадии подготовки пробы до 60 раз и объем экстрагента до 20 раз при сравнении с методиками, включающими стадию извлечения ПХБ в аппарате Сокслета.

В методику определения ПХБ в зоопланктоне, мышцах байкальского омуля и подкожном жире байкальской нерпы включена стадия предварительного щелочного гидролиза исследуемых биологических объектов. Количества анализируемых образцов оптимизированы в рамках доступности

материала, чувствительности метода, содержания ПХБ в образце и требуемой точности измерений. В частности, масса образца тюленьего жира уменьшена до 200 раз по сравнению с рекомендуемой [26], что позволило более эффективно проводить очистку фракции ПХБ с применением компактных патронов с сорбентом. При таком способе подготовки пробы степень извлечения ПХБ достигает 95 % для жира байкальской нерпы при массе образца 0.03 г (массовая доля липидов до 99 %), мышц байкальского омуля – 1 г (массовая доля липидов до 4 %) и биомассы зоопланктона – 5 г (массовая доля липидов до 3 %).

Применение патронов с массой сорбента 0.5 г (флорисил для биологических и силикагель для природных проб) позволяет сократить продолжительность данной стадии подготовки пробы до 3 мин и обеспечить чистоту выделяемой фракции ПХБ, достаточную для последующего анализа методом ГХ-МСНР (рис. 3). Кроме того, простая процедура регенерации патронов позволяет использовать их многократно (для анализа не менее 100 образцов), что важно при проведении серийного анализа.

Идентификация пиков и количественное определение ПХБ. Относительные времена удерживания конгенов в условиях скоростной хроматографии характеризуются высокой повторяемостью результатов ($V = 0.004\text{--}0.006\%$), что обеспечивает надежную идентификацию пиков ПХБ на хроматограммах. Оценка гомогенности аналитических пиков по отношению площадей пиков характеристических изотопных молекулярных ионов (S_1/S_2) в свою очередь обеспечивает требуемую точность определения.

При анализе хроматограмм экстрактов отмечено, что в режиме скоростной хроматографии пики аналитов более эффективно отделяются от пиков мешающих компонентов. Например, при хроматографии экстрактов почв (рис. 3), твердой взвеси снеговой воды, а также гидролизатов биологических образцов на масс-хроматограммах тетрахлор- (m/z 290, 292) и гептахлорбифенилов (m/z 394, 396) отсутствуют пики мешающих компонентов, в отличие от хроматограмм, зарегистрированных при плавном градиенте температуры (3 °С/мин).

Для количественного определения ПХБ в качестве суррогатного стандарта использовали структурный аналог ПХБ – 4,4'-дибромбифенил. Выбор данного соединения обусловлен его масс-спектральными, хроматографическими и сорбционными характеристиками: 1) значение t_R 4,4'-дибромбифенила лежит в интервале времен выхода тетра- и пентахлорбифенилов; 2) в масс-спектре присутствуют интенсивные молекулярные ионы с m/z 312 и 152; 3) количественная ($100\pm 5\%$) десорбция с патронов объемом элюента, необходимым для элюирования аналитов; 4) отсутствие перекрывания пика стандарта с пиками мешающих компонентов пробы; 5) химическая устойчивость в условиях щелочного гидролиза и при облучении ультразвуком.

Глава 4. Метрологические исследования. Точечные оценки повторяемости (коэффициент вариации V_r) результатов определения $\Sigma(\text{ПХБ})$, содержания групп ПХБ со степенями хлорирования от 3 до 7 и индивидуальных индикаторных конгенов ПХБ в экстрактах проб природных и биологических объектов проведены по данным текущего анализа экстрактов рабочих проб [27]. Установлена однородность \bar{V}_r^2 для соседних поддиапазонов концентраций ПХБ с использованием критерия Фишера.

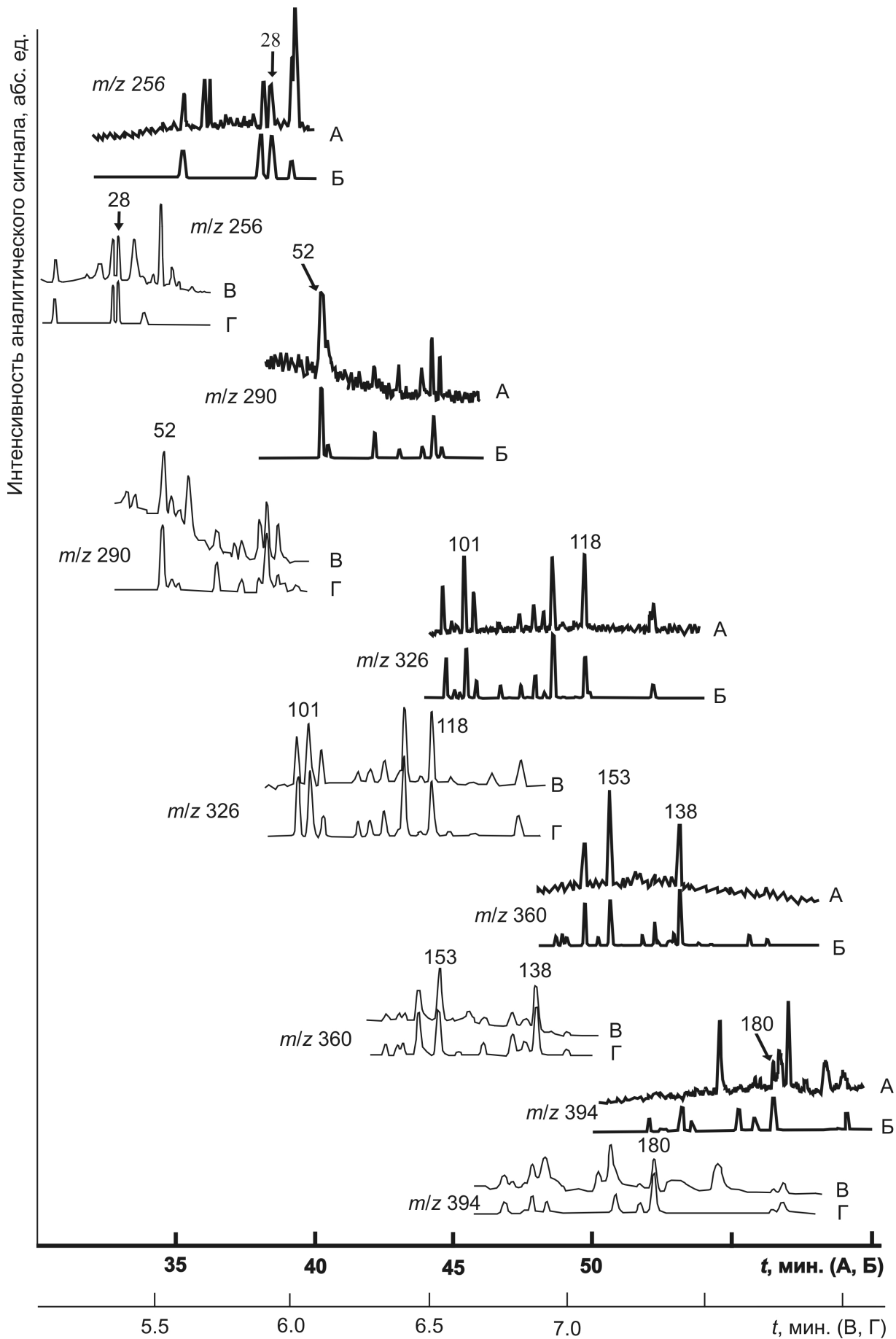


Рис. 3. Хроматограммы экстракта почвы (А, В) и стандартной смеси «Арохлор 1254» (Б, Г), снятые в условиях скоростной (В, Г) и «традиционной» (А, Б) хроматографии в режиме мониторинга выбранных ионов.

При $F < F_{\text{табл.}}$ соответствующие диапазоны концентраций объединяли и рассчитывали усредненные дисперсии \bar{V}_r^2 , однородность которых как для одного вида изучаемых объектов, так и для однотипных природных (почва, донные осадки, твердая взвесь снеговой воды) и биологических образцов (зоопланктон, мышцы омуля, жир нерпы) устанавливали с использованием критериев Кохрена и Бартлетта. Учитывая сложность организации эксперимента по определению ПХБ в разных лабораториях, точечные оценки внутрилабораторной прецизионности (коэффициенты вариации V_{R_i}) результатов определения ПХБ рассчитывали согласно ГОСТ МИ 2336-2004, подтверждая полученные значения оценкой внутрилабораторной прецизионности результатов определения ПХБ для рабочих проб. Значения V_{R_i} результатов определения $\Sigma(\text{ПХБ})$ в природных и биологических объектах составили 11 и 13 % соответственно, что отвечает требованиям экологического мониторинга [28]. Правильность результатов определения $\Sigma(\text{ПХБ})$ и групп конгенов с равной степенью хлорирования оценивали с помощью метода добавок, используя в качестве добавки растворы стандартной смеси «Арохлор 1254» (табл. 2). Найденная величина добавки соответствует введенной. ДПСП при определении ПХБ методом добавок не выявлена.

Таблица 2

Оценка правильности определения $\Sigma(\text{ПХБ})$ в природных и биологических объектах методом добавок

Объект	\bar{X} , нг	C , нг	\bar{X}' , нг	Найдено, нг
Почва	370±50	600	1000±130	630±80
Снег	108±14	145	240±30	134±17
Осадки	20±3	124	150±20	134±17
Рыба	100±10	220	340±40	230±30

Примечание: \bar{X} – средний результат анализа рабочих проб, \bar{X}' – результат анализа проб с добавкой, C – величина введенной добавки.

Оценку правильности определения индикаторных конгенов проводили методом добавок с использованием растворов стандартной смеси «СЕН РСВ mix 1». Важно отметить, что при оценке правильности определения ПХБ способом добавок не учитывается систематическая погрешность, связанная с измерением площадей пиков в случае возможного наложения пиков конгенов с одной степенью хлорирования. С целью выявления ДПСП был использован стандартный образец жировой ткани макрели «Reference material BCR®-350» (Supelco, США) с аттестованным содержанием пяти индикаторных ПХБ (табл. 3).

Таблица 3

Результаты определения индикаторных ПХБ в СО «BCR®-350»

ПХБ №	Сертифицированная концентрация, нг/г	Найденная концентрация, нг/г
52	62±11	50±10
101	165±30	170±30
118	143±20	160±20
153	318±50	300±40
180	73±15	71±14

Показано отсутствие статистически значимой случайной систематической погрешности при определении индикаторных конгенов по разработанной методике.

Глава 5. Апробация методики при определении ПХБ в природных и биологических объектах Байкальской природной территории. Методика была применена при определении ПХБ в снеговом покрове и почве, в поверхностной и глубинной воде Байкала, в донных отложениях Байкала и его притоков на южном побережье, в биомассе байкальского зоопланктона, в мышцах байкальского омуля и жире байкальской нерпы². Пробы были отобраны в 2004–2010 гг. Результаты определения $\Sigma(\text{ПХБ})$ в исследованных образцах представлены в табл. 4.

Таблица 4

Содержание $\Sigma(\text{ПХБ})$ в природных и биологических объектах БПТ

Объекты	$\Sigma(\text{ПХБ})$
Снег	1.02±0.18–600±110 нг/г сухой массы взвеси*
Почва	0.34±0.05–50±10 нг/г сухой массы
Байкальская вода	0.2–0.6 нг/л
Донные осадки	0.32±0.06–3.91±1.06 нг/г сухой массы
Зоопланктон	4.8±0.8–14.6±2.5 нг/г сырой массы
Мышцы омуля	17±3–70±10 нг/г сырой массы
Жир нерпы	6800±1100–21000±4000 нг/г сырой массы

* Примечание: для анализа брали твердую взвесь снеговой воды.

Снежный покров является удобной аккумулирующей матрицей для оценки загрязнения атмосферы в течение зимнего периода года, а также даёт возможность обнаружения источников загрязняющих веществ на контролируемой территории (рис. 4). В твердой взвеси снеговой воды накопление $\Sigma(\text{ПХБ})$ оценено в широком диапазоне значений от 1.0 до 700 нг/г сухой массы. На основании результатов апробации методики определения ПХБ в снежном покрове показано, что накопление ПХБ в снежном покрове соответствует фоновому уровню загрязнения атмосферы. Интенсивные локальные источники ПХБ на территории Прибайкалья отсутствуют. На рис. 4 отмечены участки с повышенным содержанием ПХБ в снегу, но не превышающем фоновых значений. Потоки ПХБ на снежный покров из атмосферы за период с 1994 по 2006 гг. уменьшились до 10 раз и за период с 2006 по 2010 гг. остались без статистически значимого изменения (рис. 5), что указывает на снижение загрязнения атмосферного воздуха данным классом экотоксикантов. Потоки ПХБ на снежный покров от 3 нг/м² в неделю на южном побережье Байкала до 35 нг/м² в неделю на территории г. Иркутска сопоставимы с потоками ПХБ в районах высокогорных озер Западной Европы [29, 30] – от 1.8 нг/м² в неделю (Татры) до 38 нг/м² в неделю (Альпы). При этом качественный состав ПХБ подобен составу данных экотоксикантов в снежном покрове айсбергов Арктики (Рис.6)³.

² Отбор проб природных объектов был проведен сотрудниками лаборатории хроматографии, лаборатории гидрохимии и химии атмосферы и лаборатории геологии и палеоклимата к.х.н. И.И. Маринайте, к.г.н. И.В. Томберг, Хлыстовым О.М. в рамках проведения экологического мониторинга БПТ Лимнологическим институтом СО РАН при участии диссертанта. Отбор биологических образцов и их систематизация были проведены сотрудниками лаборатории ихтиологии ЛИН СО РАН к.б.н. Е.В. Дзюба, к.б.н. М.Л. Тягун и И.Н. Смолиным.

³ Образцы снежного покрова айсбергов Арктики были любезно предоставлены в.н.с. Института океанологии им. П.П. Шершова РАН, к.г.-м.н., В.П. Шевченко.

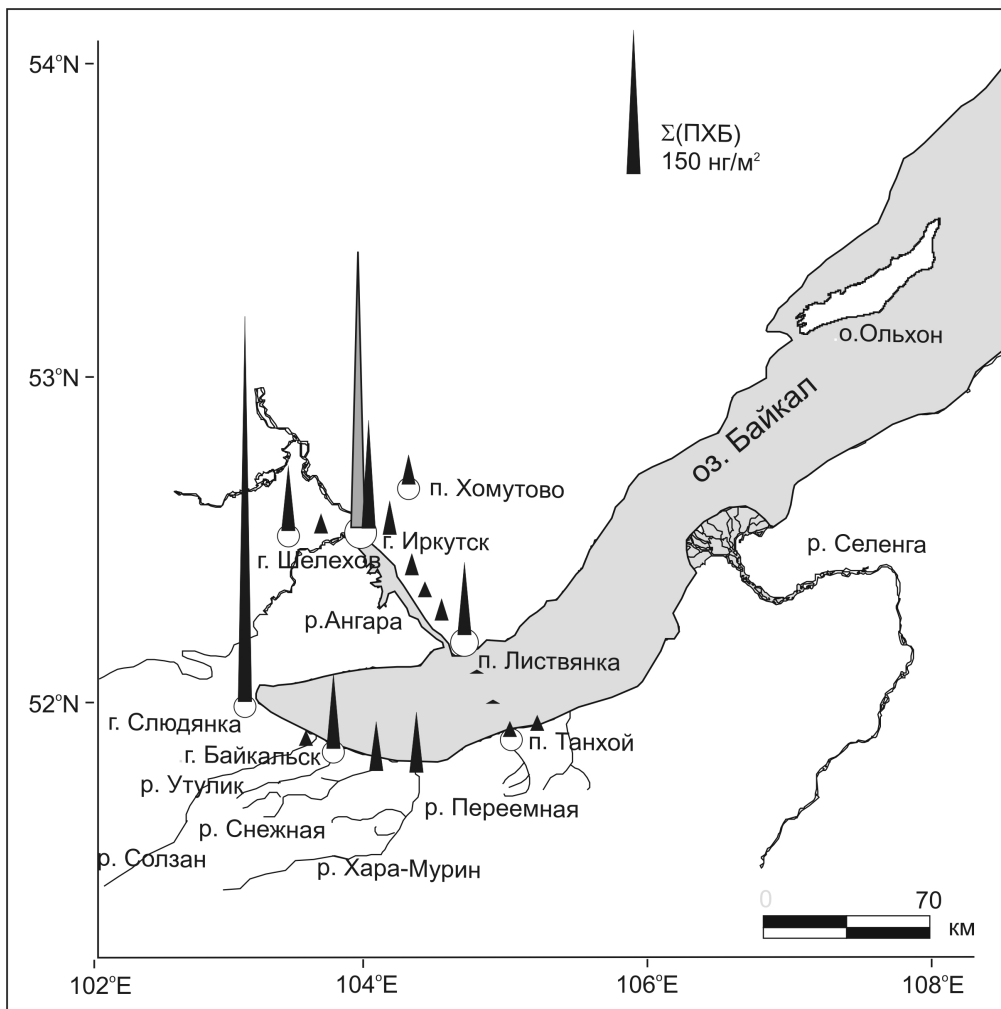


Рис. 4. Средние (▲) уровни накопления $\Sigma(\text{ПХБ})$ ($\text{нг}/\text{м}^2$) в снеговом покрове Южного Прибайкалья и максимальный зафиксированный уровень (△) в г. Иркутске в 2005 гг. (район ТЭЦ-2).

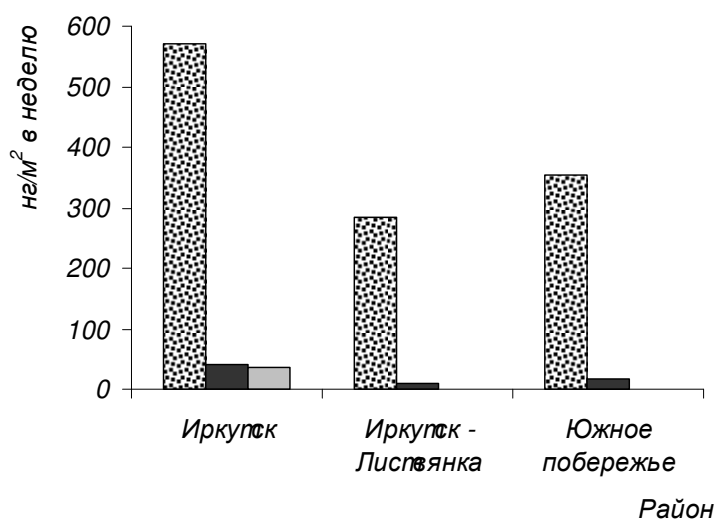


Рис. 5. Поток ПХБ на снеговой покров. ▨ – 1994–1996 гг. [7]; ■ – 2004–2006 гг., □ – 2009–2010 гг. (результаты настоящего исследования).

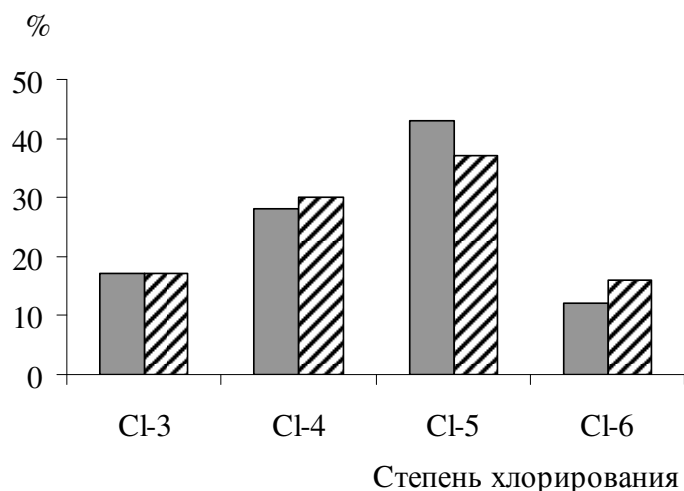


Рис. 6. Качественный состав конгенов ПХБ в снеговом покрове: ■ – арктических айсбергов; ▨ – на южном побережье Байкала (район р. Снежная).

В отличие от снегового покрова почва относится к «консервативным» природным матрицам и, накапливая загрязняющие вещества, сохраняет интегральную информацию о загрязнении атмосферы за длительный период времени, а также позволяет проводить поиск возможных локальных источников ПХБ.

При апробации методики определения ПХБ в почвенном покрове уровень аккумуляции данных экотоксикантов оценен в диапазоне значений от 1.4 нг/г сухой массы до 90 нг/г сухой массы и практически не изменился за последние 15 лет (с 1992 г.). Отмечена корреляция ($r=0.973$) между уровнем аккумуляции $\Sigma(\text{ПХБ})$ в снежном покрове и их накоплением в почве для фоновых и ряда городских районов, что указывает на атмосферный канал как на основной источник ПХБ в Прибайкалье.

Донные отложения по своему составу подобны почвам и их подготовка для анализа не требует включения дополнительных этапов. Уровень накопления ПХБ в донных отложениях озера Байкал оценен в диапазоне значений от 0.32 до 4 нг/г сухого веса и сопоставим с уровнем загрязнения донных отложений озер олиготрофного типа из фоновых районов мира. Низкое накопление ПХБ в донных отложениях, по-видимому, связано с уникально низкой скоростью современного осадконакопления в озере Байкал. В абиссальной зоне наибольших глубин скорость осадконакопления составляет в среднем 0.15 мм/год (~ 15 мм за 100 лет) консолидируемого осадка без пор [31], а донные отложения характеризуются низким содержанием органического углерода в поверхностном слое осадков (2 %) [32]. Оценивая донные отложения Байкала как объект-индикатор загрязнения водной экосистемы озера, стоит сказать, что отбор верхнего современного слоя донных осадков значительно затруднен, а смешение пробы с более ранними слоями донных отложений может приводить к занижению результата определения. В донных осадках притоков Байкала на его южном побережье ПХБ найдены в диапазоне концентраций от 0.5 до 2.1 нг/г сухой массы. Качественный состав конгенов ПХБ подобен их составу в снеговом покрове в районах устьев указанных притоков, что позволяет предполагать их поступление в данные объекты из атмосферы.

В водах Байкала концентрации $\Sigma(\text{ПХБ})$ найдены на очень низком уровне, не превышающем 0.21–0.56 нг/л. При таком загрязнении воды экстракт пробы

(объемом 1 л) будет содержать ПХБ в количествах ниже уровня обнаружения разработанной методики. Как показала апробация методики для измерения ПХБ в байкальской воде необходимо увеличение объема пробы до 10–15 л, обработка которой трудоемка, требует значительных затрат времени и реактивов. Поэтому для контроля ПХБ в байкальской воде необходима методика с более чувствительным детектированием в ее аналитическом окончании.

При выборе гидробионтов Байкала для апробации методики (зоопланктон, рыба, тюлень) руководствовались распространенностью видов в озере и их способностью аккумулировать ПХБ. Указанные виды являются ключевыми звеньями одной трофической цепи, что позволяет проследить процесс биоаккумуляции ПХБ в зависимости от трофического статуса организма.

Определены уровни накопления Σ (ПХБ) в байкальском зоопланктоне: от 4 до 8 нг/г сырой массы (300–450 нг/г в пересчете на липиды) для эпишуры и от 8 до 14 нг/г сырой массы (300–700 нг/г липидов) для макрогектопуса, соответствующие уровню накопления ПХБ в зоопланктоне в фоновых районах мира.

В мышцах байкальского омуля *Coregonus migratorius* придонно-глубоководной морфо-экологической группы, отнесенного к ценному виду промысловых рыб, в возрасте от 1 до 7 лет содержание Σ (ПХБ) ПХБ оценено в диапазоне значений от 20 до 40 нг/г сырой массы (800–2500 нг/г в пересчете на липиды), не изменился за период с 1985 по 2010 гг. и не превышает ПДК, установленной для промысловых рыб. В табл. 5 представлены диапазоны содержания Σ (ПХБ), групп ПХБ и индикаторных конгенов в исследованных образцах мышц байкальского омуля и подкожном жире байкальского тюленя (2007–2009 гг.).

Таблица 5

Диапазоны содержания ПХБ в байкальских гидробионтах

ПХБ	Мышцы омуля		Жир тюленя
	нг/г сырой массы	нг/г липидов	нг/г липидов
Σ (ПХБ)	17±3–70±10	700±110–3200±500	6800±1100–21000±4000
Группы ПХБ			
Cl-3	2.0±0.4–15±3	62±13–400±80	65±15–770±160
Cl-4	5.10±1.04–12.2±2.5	90±20–800±170	600±130–1400±300
Cl-5	6.3±1.3–34±7	500±100–2100±400	2900±600–8600±1800
Cl-6	3.3±0.7–20±4	82±17–900±200	1900±400–8500±1800
Cl-7	0.40±0.08–4.3±0.8	10.4±2.1–300±63	510±110–2680±560
Индикаторные конгены ПХБ			
28	0.48±0.14–3.6±1.1	18±6–140±40	100±30–420±120
52	0.92±0.23–2.8±0.7	40±10–210±50	80±20–210±50
101	1.7±0.4–6.1±1.4	72±16–300±70	360±80–1140±250
118	1.8±0.4–7.9±1.6	100±20–500±100	840±170–3500±700
138	0.84±0.17–6.2±1.3	42±8–400±80	1000±200–4600±300
153	0.67±1.14–4.4±0.9	33±6–210±40	530±110–1600±300
180	0.15±0.04–1.5±0.4	8.1±2.4–80±24	250±70–1400±400

В мышечной ткани рыб старших возрастных групп (8–12 лет) накопление Σ (ПХБ) обнаружено на уровне 50–60 нг/г сырой массы (800–3200 нг/г липидов),

что связано с возрастными изменениями их пищевого спектра. Как видно из рисунка, качественный состав ПХБ в мышечной ткани особей в возрасте 1–3 года максимально схож с составом ПХБ в биомассе зоопланктона, который является основным кормовым объектом на данном этапе его развития (рис. 7).

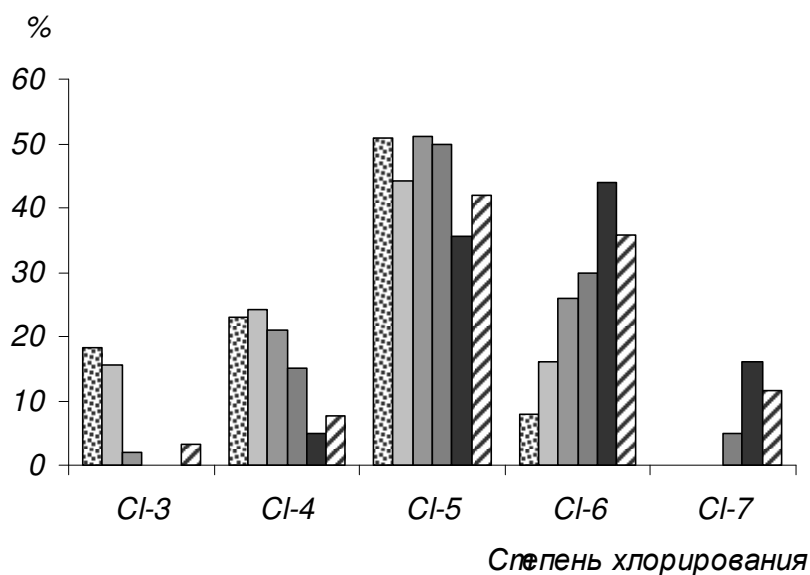


Рис.7. Качественный состав конгенов ПХБ: ▨ – зоопланктон; ▩ – омуль (1–3 года); ▪ – омуль, 5 лет; ▫ – омуль, 9 лет; ▬ – омуль, 13 лет; ▧ – нерпа.

Согласно результатам апробации в подкожном жире байкальской нерпы накопление ПХБ не выходит за рамки диапазонов от 7000 до 19000 нг/г (сырая масса) для самцов и от 7000 до 22000 нг/г (сырая масса) для самок. Средний уровень накопления ПХБ в жире нерпы до 14 раз выше, чем в тюленях, обитающих в фоновых районах мира (Арктика), но до 20 раз меньше по сравнению с тюленями Балтийского моря [33]. Кроме того, отмечено увеличение уровней накопления ПХБ при движении по трофической цепи байкальских гидробионтов с коэффициентами биоаккумуляции $K_{БА}$ от 10000 для эпишуры до 30000000 для байкальской нерпы.

Выводы

1. В условиях резкого температурного градиента от 80 до 320°C при скорости нагрева 40°C/мин реализуется скоростная хроматография индикаторных конгенов ПХБ на стандартной капиллярной колонке НТ-8 (длина 30 м). Время элюирования фракции ПХБ сокращается до 3 мин с сохранением высокой селективности карборановой фазы, пределы обнаружения снижаются до 10 раз (1–7 пг/пик, $S/N = 3/1$).
2. Снижение пределов обнаружения ПХБ при анализе методом скоростной хроматографии позволило уменьшить представительную массу анализируемого образца и проводить подготовку проб более эффективными способами – экстракцию ПХБ за время не более 10 мин, сорбционную очистку экстрактов на компактных патронах за время не более 3 мин при возможности их многократного использования.
3. Методика определения ПХБ с применением методов скоростной газовой хроматографии и масс-спектрометрии дает возможность проводить измерение суммы обнаруженных конгенов, групп конгенов с одной степенью хлорирования и индикаторных соединений при содержании $\sum(\text{ПХБ})$ от 0.5 до

700 нг/г сухой массы в природных объектах и от 5 до 25000 нг/г сырой массы – в биологических с внутрилабораторной прецизионностью $V_{R,t}$ 11 и 13% соответственно.

4. Разработанная методика применима для мониторинга ПХБ в природных и биологических объектах БПТ. Измеренные уровни накопления ПХБ в снеговом (1.0–600 нг/г сухой массы взвеси) и почвенном (0.34–50 нг/г сухой массы) покровах БПТ, зоопланктоне (5–14 нг/г сырой массы), мышцах байкальского омуля (15–70 нг/г сырой массы) и жире нерпы (7–21 мкг/г сырой массы) соответствуют фоновым значениям и не изменились за последние 15 лет.

Основные результаты изложены в следующих работах:

1. **Никонова А.А.**, Горшков А.Г. // Химия в интересах устойчивого развития. – 2007. – № 15. – С. 363–369.
2. **Nikonova A.A.**, Gorchkov A.G. // Analytical Letters. – 2011. – V. 44. Issue 7. – P. 1290–1300.
3. **Никонова А.А.**, Горшков А.Г. // Журнал аналитической химии. – 2012. – Т.67. № 1.– С. 74–83.
4. **Никонова А.А.**, Горшков А.Г. // Прил. к журн. «Известия Национальной академии наук Беларуси». – В 5 ч. Ч. 1. Серия химических наук. – Минск: Беларус. навука. – 2010. – С. 60–64.
5. **Никонова А.А.**, Дзюба Е.В., Горшков А.Г., Тягун М.Л. // Научно-практическая конференция «Состояние и проблемы искусственного воспроизводства рыбных запасов Байкальского региона», Улан-Удэ, 10–12 июля 2008 г. – С. 78–80. – Сб. статей.
6. **Никонова А.А.**, Горшков А.Г. // III всероссийская конференция по водной токсикологии, посвященная памяти Б.А. Флерова, «Антропо-генное влияние на водные организмы и экосистемы», Борок, 11–16 ноября, 2008 г. – Часть 1. – С. 63–66. – Материалы конференции.
7. **Никонова А.А.**, Горшков А.Г. // Четвертая Верещагинская Байкальская конференция, Иркутск, 26 сентября–1 октября, 2005 г. – С. 140. – Сб. тезисов.
8. Gorchkov A.G., **Nikonova A.A.** // ICAS-2006 International Congress on Analytical Sciences. Moscow, June 25 – 30, 2006. – P. 377. – Book of Abstracts.
9. **Никонова А.А.**, Горшков А.Г. // Всероссийский симпозиум «Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях», Москва, 23–27 апреля, 2007 г. – С. 32. – Сб. тезисов.
10. Горшков А.Г., **Никонова А.А.** // VI международный симпозиум «Контроль и реабилитация окружающей среды», Томск, 3–5 июля, 2008 г. – С. 292–294. – Материалы симпозиума.
11. **Никонова А.А.**, Дзюба Е.В., Горшков А.Г. // VIII научная конференция «Аналитика Сибири и Дальнего Востока», Томск, 13–18 октября, 2008 г. – С. 223. – Сб. тезисов.
12. **Никонова А.А.**, Горшков А.Г. // Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез», Краснодар, 26 сентября–1 октября, 2010 г. – С. 174. – Сб. тезисов.
13. **Никонова А.А.**, Дзюба Е.В., Горшков А.Г. // «Пятая верещагинская байкальская конференция», Иркутск, 4–9 октября, 2010 г. – С. 36–37. – Сб. тезисов.

14. **Никонова А.А.**, Смолин И.Н., Дзюба Е.В., Горшков А.Г. // «Пятая верещагинская байкальская конференция», Иркутск, 4–9 октября, 2010 г. – С. 37–38. – Сб. тезисов.
15. **Никонова А.А.**, Дзюба Е.В., Горшков А.Г., Смолин И.Н. // IV Международная научная конференция «Озерные экосистемы: биологические процессы, антропогенная трансформация, качество воды», Минск, 12 – 17 сентября, 2011 г. – С. 34. – Сб. тезисов.

Цитированная литература

1. Малахов С.Г., Бобовникова Ц.И., Дибцева А.В. // Комплексный глобальный мониторинг состояния биосферы. – 1986. – Т. 2. – С. 113–122.
2. Бобовникова Ц.И., Вирченко Е.П., Дибцева А.В. // Гидробиологический журнал. – 1986. – Т. 22, № 2. – С. 63–66.
3. Kucklick J.R., Bidleman T.F., McConnell L.L., Walla M.D., Ivanov G.P. // Environ. Sci. and Technol. – 1994. – V. 28, N. 1. – P. 31–37.
4. Iwata H., Tanabe S., Ueda K., Tatsukawa R. // Environ. Sci. and Technol. – 1995. – V. 29. – P. 792–801.
5. Kucklick J.R., Harvey H.R., Ostrom P.H., Ostrom N.E., Baker J.E. // Environmental Toxicology and Chemistry. – 1996. – V. 15. N. 8. – P. 1388–1400.
6. Мамонтов А.А., Мамонтова Е.А. // Современные проблемы геохимии. Материалы конференции молодых ученых. Иркутск: ИГХ СО РАН. – 2000. – С. 53–56.
7. Мамонтова Е.А., Мамонтов А.А., Тарасова Е.Н. Загрязнение диоксинами и родственными веществами окружающей среды Иркутской области. Иркутск: Изд-во СО РАН, 2000. – 48 с.
8. Грачев М.А. О современном состоянии экологической системы озера Байкал. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002. – 156 с.
9. US EPA Method 3540C. Soxhlet extraction. SW-846 Ch 4.2.1 [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.caslab.com/EPA-Method-3540C/> (дата обращения 28.11.2004).
10. US EPA Method 3630. Silica gel cleanup. Revision 3. December 1996 [Электронный ресурс]. – URL: www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3630c.pdf (дата обращения 7.12.2010).
11. US EPA Method 3620. Florisil cleanup. Revision 3. February 2007 [Электронный ресурс]. – URL: www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3620c.pdf (дата обращения 7.12.2010).
12. US EPA Method 3610. Alumina cleanup. Revision 2. December 1996 [Электронный ресурс]. – URL: www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3610b.pdf (дата обращения 7.12.2010).
13. US EPA Method 3640. Gel-permeation cleanup. Revision 1. September 1994 [Электронный ресурс]. – URL: www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3640a.pdf (дата обращения 8.12.2010).
14. Erickson M.D. Analytical chemistry of PCBs. – USA: CRC Press, Second Edition, 1997. 667 p.
15. Ключев Н.А., Бродский Е.С. // Супертоксиканты XXI века / Инф. выпуск ВИНТИ. М., 2000. – № 5. – С. 31–63.
16. Шелепчиков А.А., Бродский Е.С., Жильников В.Г., Фешин Д.Б. // Масс-спектрометрия. – 2008. – Т. 5. – № 4. – С. 245–258.

17. Muir D., Sverko E. // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2006. – V. 386. – P. 769–789.
18. Alvarado J.S. Performance-based, cost- and time-effective PCB analytical methodology // *Abstracts 1st International Symposium on Integrated Technical Approaches to Site Characterization*, 1998. Chicago. P. 142.
19. Fast GC. The practical solution to the challenge of high-speed gas chromatography Varian Sep-8375/371 15 M 2/95.
20. Marieke van Deursen. Novel concepts for fast capillary gas chromatography. Eindhoven: Technische Universiteit Eindhoven, 2002. – 172 p.
21. Jacq K., Tienpont B., David F. Automated SPE and fast GC-ECD analysis of PCBs in waste oil [Электронный ресурс]. – URL: www.gerstel.com (дата обращения 4.05.2011).
22. Korytar P., Janssen H.-G., Matisova E., Brinkman U.A.Th. // *Trends in Anal. Chem.* – 2002. – V. 21. N. 9 – P. 558–572.
23. Sandra P., David F. // *J. of Chromatogr. Sci.* – 2002. – V. 40. – P. 248–253.
24. Casilli A., Tuccillo F., Bergna M. Fast GC/TOF-MS determination of polychlorinated biphenyls (PCBs) [Электронный ресурс]. – URL: www.danispa.it. (дата обращения 4.05.2011).
25. Matisova E., Domotorova M. // *Journal of Chromatography A.* – 2003. – V. 1000. – P. 199–221.
26. Imaeda D., Kunisue T., Ochi Y., Iwata H., Tsydenova O., Takahashi S., Amano M., Petrov E.A., Batoev V., Tanabe S. /*Interdisciplinary studies on environmental chemistry – biological responses to chemical pollutants*. Tokyo: TERRAPUB, 2008. – P. 311–320.
27. Смагунова А.Н., Карпукова О.М. *Методы математической статистики в аналитической химии*. Иркутск: Изд-во Иркут. гос. ун-та, 2008 г. – 339 с.
28. Майстренко В.Н., Клюев Н.А. *Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей*. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004 г. – 323 с.
29. Carrera G., Fernández P., Vilanova R.M., Grimalt J.O. // *Atmospheric environment*. – 2001. – V. 35. – P. 245–254.
30. Albert L.A., Ahlborg U.G., Benes V. *Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls (Second Edition)*. International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 140 [Электронный ресурс] URL: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc140.htm> (дата обращения 5.01.2006).
31. Мизандронцев И.Б. *Химические процессы в донных отложениях водоемов*. Новосибирск: Наука. Сиб. отделение, 1990. – 176 с.
32. Выхристюк Л.А. *Органическое вещество донных отложений озера Байкал*. Автореферат диссертации. Москва, 1975.
33. Muir D.C.G., Norstrom R.J., Simon M. // *Environ. Sci. and Technol.* – 1988. – V. 22, № 8. – P. 1071–1079.

Подписано в печать 12.01.2011. Формат 60×90 1/16.

Бумага офсетная. Объем 1.2 п.л. Тираж 150. Заказ № 116.

Издательский отдел Института солнечно-земной физики СО РАН

664033, Иркутск, ул. Лермонтова, 126 а