

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«Уральский государственный университет им. А.М. Горького»

ИОНЦ «Экология и природопользование»

Химический факультет

Кафедра органической химии

Органические суперэкоотоксиканты. Аналитический аспект

Методические указания к изучению дисциплины

Екатеринбург

2007

Введение

В спецкурсе обобщены данные по организации и проведению эколого-аналитического мониторинга органических суперэкотоксикантов (СЭТ): полихлорированных диоксинов, дибензофуранов, бифенилов, хлорсодержащих пестицидов, полициклических ароматических углеводородов, нитрозаминов, афлатоксинов в природных средах и живых организмах; а также применению методов аналитической химии для определения этих веществ в различных объектах. Рассмотрены особенности распространения СЭТ в природных средах, их свойства, классификация. Большое внимание уделено методам пробоотбора, пробоподготовки и определения СЭТ в природных матрицах. Целью данного спецкурса являются: формирование у студентов активной позиции и развитие инициативы в решении разнообразных проблем, определяемых государственными требованиями в условиях экологической неблагоприятной ситуации; выработка умения представить химический анализ от пробоотбора до конечного результата как единый технологический процесс с применением современной методологии, понимания ответственности эксперта в интерпретации полученных результатов и принятия адекватных решений. Спецкурс направлен на систематизацию и обобщение полученного студентами ранее комплекса знаний, профессионального становления, формирование эколого-аналитической культуры, реализацию концепции единства измерения. Особое внимание уделено обеспечению качества аналитического контроля, которое включает в себя достижения высокой точности, надёжности, стабильности и информативности на всех этапах от пробоотбора до получения конечного результата анализа. Это наличие методик пробоотбора и пробоподготовки не только детально регламентирующие процедуру и порядок действий, но и охарактеризованных метрологически: наличие методологии, средств измерения, аккредитованных лабораторий в соответствии с международными стандартами системы контроля правильности анализа для

каждого контролируемого объекта, наличие стандартных образцов состава и образцов сравнения.

Тема 1. Проблемы эколого-аналитического мониторинга загрязнений окружающей среды

Часть 1

Лекция 1

Первым шагом на пути изучения и решения экологических проблем является создание информационных систем, характеризующих состояние окружающей среды. В подавляющем большинстве случаев источники информации базируются на результатах аналитических измерений. В зависимости от поставленных задач аналитические измерения могут осуществляться в следующих целях: для контроля происходящих в окружающей среде изменений и выявления вызвавших их причин; для получения вторичной информации, основанной на результатах наблюдений или контроля; для прогнозирования тенденций изменения экологической ситуации на локальном, региональном, федеральном или глобальном уровне.

Основные определения. Задачи эколого-аналитического мониторинга

Эколого-аналитический мониторинг загрязнений находится на стыке различных дисциплин и включает в себя ряд проблем. Применительно к окружающей среде термин мониторинг означает «систему непрерывных наблюдений, измерений и оценки состояния окружающей среды в соответствии с заранее подготовленной научно обоснованной программой и является составной частью понятия контроль, которое включает в себя еще и элементы принятия решений и управления.

Задачами мониторинга загрязнений являются: определение уровней загрязнителей в различных средах, их распространение в пространстве и изменение во времени; определение величин и скоростей распространения потоков загрязнителей, их превращения; сравнение методов пробоотбора и анализа загрязнителей между странами для получения сопоставимых

результатов и обмен информацией об организации систем мониторинга; обеспечение пользователей в глобальном и региональном масштабе информацией, необходимой для принятия решений по устранению загрязнений.

Эколого-аналитический мониторинг загрязнений в составе Единой государственной системы экологического мониторинга (ЕГСЭМ)

В ЕГСЭМ применяется территориально-ведомственный принцип построения системы и предусматривается максимальное использования возможностей уже существующих государственных и ведомственных систем мониторинга биосферы, антропогенных воздействий, состояния биоты и экосистем, среды обитания человека и животных. Главными задачами ЕГСЭМ являются: разработка программ наблюдения за состоянием окружающей природной среды на территории РФ, в её отдельных регионах и районах; организация наблюдений и проведение измерений показателей объектов экологического мониторинга СЭТ; обеспечение достоверности и сопоставимости данных наблюдений как в отдельных регионах и районах, так и по всей территории РФ; сбор, обработка, хранения данных наблюдений; создание и международная гармонизация банков данных; оценка и прогноз состояния окружающей среды; организация и проведение оперативного контроля; информационное обеспечение; разработка и реализация единой научно-технической политики в области экологического мониторинга.

Основные задачи эколого-аналитического мониторинга суперэкотоксикантов

Международное сотрудничество и созданы специальные национальные программы. С 1980 г. ежегодно проводятся международные конференции по полихлорированным диоксидам, дибензофуранам и родственными соединениями. Из крупных производителей и потребителей хлорных продуктов только наша страна до последнего времени не имела национальной программы по изучению этой проблемы за исключением региональных программ, например эколого-

аналитический мониторинг диоксинов в Республике Башкортостан. Загрязнение окружающей среды диоксинами опасно из-за отдаленных последствий их влияния. В середине 70-х годов более 6% вьетнамских детей рождались с синдромом Дауна, гидроцефалией, аномалиями конечностей, что связывают с воздействием диоксинов, которые содержались в используемом армией США гербициде.

Актуальной является задача организации экспресс-контроля СЭТ. Применение традиционных методов (хромато-масс-спектрометрии) требует длительного времени и больших затрат. Надежды на разработку тест-систем на основе иммуноферментных методов пока не оправдались из-за низкой селективности определений. Для диоксинов, например, коэффициенты токсичности зависят от числа атомов хлора и их расположения в молекуле и изменяются от нуля до единицы. Поэтому важно знать, какие конкретные изомеры находятся в данном объекте. При мониторинге СЭТ нельзя ограничиваться только констатацией фактов загрязнения. Важно дать ответ на вопросы об источниках и составе загрязняющих веществ, путях их попадания в окружающую среду и пищевые продукты, динамике изменения концентрации СЭТ в организме человека.

Часть 2

Лекция 2

Нормативно-техническое и методическое обеспечение, правовая регламентация эколого-аналитического мониторинга суперэкоотоксикантов

Для регулирования качества природной среды предложены следующие подходы к ограничению загрязнений : санитарно-гигиенические, основанные на обязательном соблюдении норм качества окружающей среды (ПДК, ОДК и др.); ограничения, основанные на установлении предельных выбросов и сбросов загрязняющих веществ в окружающую среду (ПДВ, ПДС и т.п.); ограничения, связанные с выбором и соблюдением экономического оптимума при анализе затрат и ущерба; ограничения на базе всестороннего анализа природной среды.

Чаще всего используются два первых подхода. ПДК загрязняющих веществ

несут важнейшую функцию стандарта качества природных объектов, призванного обеспечить здоровье населения и регламентировать возможности выбросов и сбросов загрязняющих компонентов.

Для извлечения информации об источниках загрязнения и их интенсивности более интересен подход, связанный с ограничением выбросов и сбросов в природную среду. Величины ПДВ и ПДС основываются на санитарно-гигиенических нормах и учитывают экологическую нагрузку в данном районе. Достижение допустимых нагрузок возможно путем установления временно согласованных величин выбросов (ВСВ) и сбросов (ВСС) с постепенным их снижением до нормы.

Нормирование СЭТ по параметрам токсичности не всегда обеспечивает безопасность при контакте с ними (канцерогены, мутагены и эмбриотоксиканты). Пороговые дозы, вызывающие эти эффекты, нередко меньше пороговых (минимально действующих) доз токсичности. Отдаленные патологические последствия и реакции организма на воздействие СЭТ должны обязательно учитываться при оценке их опасности. Поэтому стоит вопрос об уменьшении риска поражения человека и природы СЭТ, для чего устанавливают нормы их допустимого поступления в среду обитания и организм человека, а также нормы допустимых их техногенных выбросов.

Необходима разработка единых документов, регламентирующих требования к организации и проведению эколого-аналитического мониторинга обычных, загрязняющих веществ и СЭТ. Для этого следует создать межведомственный совет с участием всех заинтересованных организаций и либо поручить разработку таких документов одной из них, по типу EPA в США.

Регламентация методик химического анализа позволяет получать сопоставимые данные в различных лабораториях. Однако для СЭТ такой подход не всегда приемлем. Это связано с невозможностью полной стандартизации условий пробоподготовки. Природные образцы никогда не бывают постоянными и для СЭТ, концентрация которых не превышает 10^{-7} – 10^{-12} %, даже детально расписанная методика анализа может привести к ошибочным

результатам. Например, при определении диоксинов в женском молоке систематическая ошибка может превышать их концентрацию даже при сопоставлении результатов анализов нескольких лабораторий.

Необходимо регламентировать технику пробоотбора их следовых количеств и ультрамикроразнообразий, особенно в воздухе и газовых выбросах.

Из большого числа методик анализа СЭТ только небольшая часть может быть применена в системе эколого-аналитического мониторинга, отвечающая современным требованиям надежности, чувствительности и избирательности определений при анализе сложных природных матриц, промышленной продукции и отходов производства. Эти методики реализуются при использовании уникальных дорогостоящих приборов и реактивов, изотопных стандартов, требуют исключительно высокой квалификации специалистов. Применяемые методики должны быть унифицированы, аттестованы и введены в действие нормативными документами, обладающими юридической силой и соответствовать методикам применяемым различными контролирующими органами, а также международному стандарту.

В рамках Международной организации по стандартизации (ISO) действуют три технических комитета, непосредственно занимающихся стандартизацией методик контроля качества вод (ТК 147), воздуха (ТК 146) и почв (ТК 190). Разрабатываемые этими комитетами нормативные документы признаны международными соглашениями, метрологически обеспечены и могли бы с успехом применяться в РФ, являющейся членом ISO.

Анализ существующей обстановки в РФ и других странах в связи с загрязнением окружающей среды суперэкоксикантами

Существует возможность угрозы среде обитания многих городов и регионов РФ вследствие поступления в неё загрязняющих веществ и в том числе СЭТ. Результаты систематических наблюдений показывают, что средний уровень загрязнения воздуха бенз(а)пиреном превышает ПДК в 100 городах (Братск, Новокузнецк, Кемерово, Тюмень и др.) Основное поступление

полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в окружающую среду связано с различными пиролитическими процессами: сжиганием угля, газа, нефтепродуктов. Большой вклад вносит автомобильный транспорт. Расчёты показывают, что эмиссия бенз(а)пирена в атмосферу с территории бывшего СССР достигает 985 т в год.

В Волгу, бассейн которой обеспечивает питьевой водой более 60 млн. человек, ежегодно сбрасывается свыше 20 км³ сточных вод, в том числе 2,5 км³ неочищенных и более 7 км³ загрязнённых. В Куйбышевском и Саратовском водохранилищах содержание хлорорганических соединений зачастую в десятки раз превышает ПДК. На некоторых участках малых рек в зоне Череповца выявлены в количестве от 3 до 43 ПДК ПАУ, полихлорированные бифенилы (ПХБ) в концентрации 0,2-0,33 мкг/л, что на три порядка превышает уровни, рекомендованные ВОЗ для поверхностных водоёмов. Постоянное наличие СЭТ в воде обуславливает их накопление, но уже в значительно больших концентрациях: в грунте, водорослях, моллюсках и тканях рыб. В частности, если концентрация полихлорированных диоксинов в воде реки Белая ниже Уфы составляет 1-2 пг/л, то в донных отложениях их содержание достигает 10 нг/кг, а в рыбе – 0,8-2,5 нг/кг.

Многие хлорсодержащие пестициды были запрещены к употреблению, но до сих пор продолжается использование гексахлорана, дихлоранилина и 2,4-Д, которые содержат диоксины и дибензофураны. азота Для притоков Кубани характерно повышенное содержание (от 6 до 12 ПДК) хлор- и фосфор органических пестицидов .

В РФ выявлено около 1000 очагов загрязнения подземных вод, из которых $\frac{3}{4}$ расположены в европейской части. По экспертным оценкам, суммарный расход загрязнённых вод на водозаборах составляет 5-6% от общего количества подземных вод, используемых для питьевого водоснабжения. Неблагоприятная ситуация с химическим загрязнением источников питьевой воды сложилась в городах, где водоснабжение осуществляется из рек бассейна Волги (Саратов, Астрахань и др.), в Архангельской, Томской, Ярославской,

Калужской областях, Башкортостане, Калмыкии, Дагестане, Карачаево-Черкессии. С начала 80-х годов и по настоящее время наблюдается устойчивая тенденция к повышению суммарного содержания пестицидов в Азовском и Каспийском морях, которые накапливаются в органах и тканях рыб (осетровые, судак, сазан). Загрязнена почва вокруг промышленных предприятий - 730 тыс. га имеют чрезвычайно опасное загрязнение (Ревда, Уфа и др.). К чрезвычайно опасной категории отнесены земли 2,9%, к опасной категории загрязнения 7,8% и к умеренно опасной 11% городов. Грязная почва – это всегда грязная сельскохозяйственная продукция. Так, при загрязнении почвы остатками гексахлорциклогексана свыше 0,5 мг/кг происходит загрязнение растений выше максимально допустимого уровня.

Основными источниками эмиссии диоксинов в окружающую среду являются целлюлозно-бумажные комбинаты. Особенно сильно загрязнены диоксинами дельта Северной Двины и участок Вычегды от Сыктывкара до Котласа. В Архангельске некоторые образцы донных осадков содержат диоксины в концентрациях до 5,4 нг/кг. Содержание диоксинов в питьевой воде Архангельска находится в пределах утвержденных норм, тем не менее они содержатся на уровне до 0,5 ПДК (10 пг/л). О широком распространении диоксинов в Архангельской области свидетельствует наличие их в коровьем масле (в концентрациях, превышающих допустимый уровень в 1,5 раза). Наличие в городах Уфа и Стерлитамак (Башкортостан.) предприятий, производящих различные хлорорганические вещества, в том числе 2,4-Д (в 60-е годы 2,4,5-Т), привело к довольно сильному загрязнению природной среды диоксинами. О степени её загрязнения свидетельствуют данные по содержанию диоксинов в грудном молоке женщин, проживающих в этих городах, и пищевых продуктах.

В связи с опасностью накопления диоксинов в организме детей через молоко ВОЗ была разработана международная программа исследования по данной проблеме. К ней подключились все развитые страны, а с 1987 г. работают международные группы по ряду направлений. В настоящее время

мониторинг диоксинов осуществляется в США, Канаде, Японии и большинстве стран Западной Европы. Его осуществление требует больших затрат и усилий. Так, стоимость каждого изомер-избирательного определения достигает 2,5-4,0 тыс. долларов. Как правило, в большинстве стран исследования направлены на оценку фоновых уровней ПХДД и ПХДФ в природных объектах, пищевых продуктах, крови, грудном молоке. В последние годы осуществляются обширные программы изучения почв, донных отложений, воздуха, рек и внутренних водоёмов. Более детальному обследованию подвергается индустриальные источники эмиссии диоксинов: целлюлозно-бумажные комбинаты, предприятия хлорной химии, мусоросжигающие заводы, свалки бытовых и промышленных отходов. Большинство национальных программ направлено на резкое уменьшение выбросов диоксинов в окружающую среду с достижением в перспективе безопасных значений.

В последнее время многими учеными высказывается озабоченность в связи с широким применением нитратов. На рынках Москвы обнаружено превышение нормативов в среднем на 20%. Иногда содержание нитратов в детских овощных консервах доходит до 1000 мг/кг при допустимом уровне 15 мг/кг.

Без оценки загрязнения природных объектов суперэкоотоксикантов и выявления источников их эмиссии невозможно в полной мере осуществить шаги по регулированию качества окружающей среды. Организация эколого-аналитического мониторинга СЭТ признана необходимой во многих странах, причём его важнейшие функции должны быть одинаковыми и осуществляться на основе единых подходов, включая методику наблюдений, оценку и прогноз загрязнения, унификацию методов анализа, выработку нормативных требований и т.п. В США, Великобритании, Японии, Германии и ряде других стран осуществляются национальные программы мониторинга тех или иных СЭТ (диоксины, бенз(а)пирены и др.) В настоящее время делаются попытки создания систем «раннего предупреждения» для наиболее опасных химических соединений, загрязняющих природную среду. Проводятся токсикологические и

эпидемиологические исследования, клинические испытания. Эта идея нашли отражение в решениях различных международных организаций (ВОЗ, ЮНЕП и др.) и правительств ряда стран. Человечество не может не считаться с наличием в биосфере СЭТ и вынуждено принимать меры по защите от них и оздоровлению среды обитания. Неблагополучная медицинская обстановка во многих регионах РФ явно связана с недооценкой мирового опыта по влиянию СЭТ на человека.

Тема 2: «Классификация суперэкоотоксикантов: физико-химические свойства и распространение в природных средах»

Часть 1

Лекция 3

Классификация суперэкоотоксикантов по степени опасности для окружающей среды

Опасность СЭТ для человека в значительной мере определяется способностью последних к кумуляции. При этом различные болезненные состояния могут развиваться спустя длительные сроки после воздействия на организм тех или иных веществ. Обычно опасность химических соединений характеризуется величиной минимально действующей, или пороговой, дозы (концентрации) вещества, которая при однократном (остром) или многократном (хроническом) воздействии вызывает явные, но обратимые изменения жизнедеятельности организма. Их обозначают соответственно Lim_{ac} и Lim_{ch} . В качестве летальных показателей используются средняя и абсолютная дозы (концентрации) – DL_{50} и DL_{100} (CL_{50} и CL_{100}), вызывающие соответственно гибель 50% и 100% подопытных животных. Применительно к высокотоксичным веществам величину токсичности (Т) определяют также по формуле Габера, которая не учитывает последствий биотрансформации ксенобиотиков и кумулятивного эффекта: $T = CtV/g$ (С – концентрация, мг/л; t – время воздействия, мин; V – объем легочной g – масса тела, кг)

Существует много типов классификаций, но для органических СЭТ подходит классификация по степени опасности для окружающей среды (схема 1.)

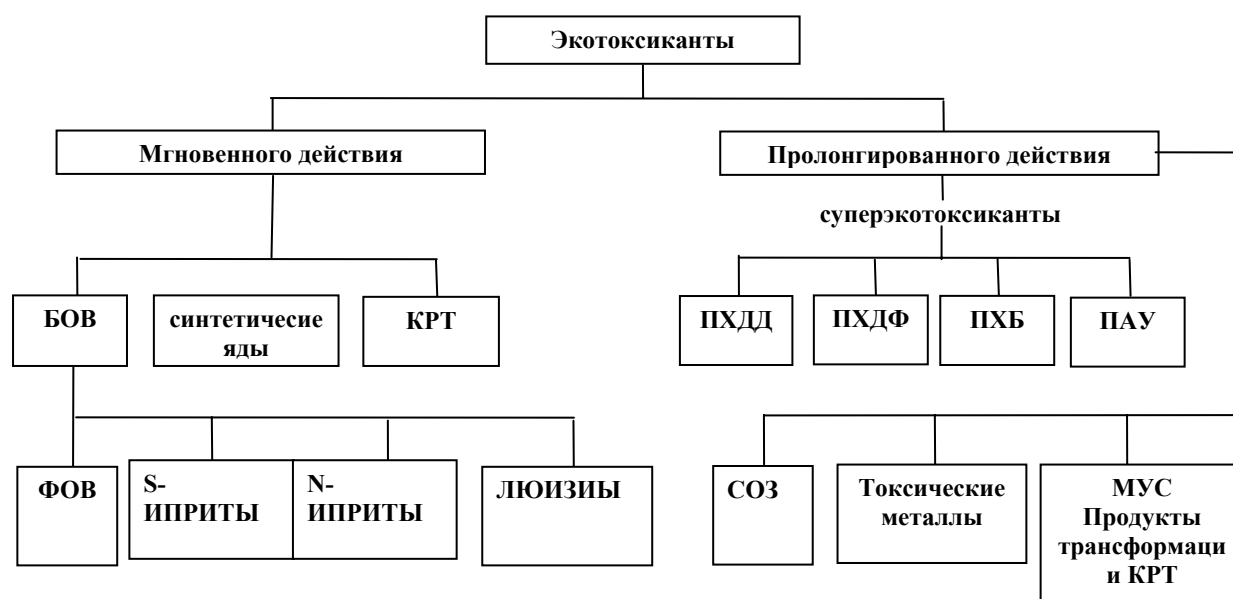


Схема 1.

Основные источники суперэкотоксикантов

Источники эмиссии СЭТ и пути их проникновения в окружающую среду разнообразны. В основном они образуются в результате хозяйственной деятельности человека в промышленно развитых странах, особенно в городах, где сосредоточено большинство населения, и имеют, как правило, техногенное происхождение. В тканях чилийских индейцев, а также эскимосов, замерзших 400 лет назад, не удалось обнаружить диоксины даже в следовых количествах. Особую опасность для окружающей среды представляют пространственно распределенные источники, поскольку, во-первых, они загрязняют большие территории (например, автомобильный транспорт) и, во-вторых их трудно обнаружить до того, как они себя проявят. К ним можно отнести: лесные пожары (леса, обработанные хлор- и фосфорсодержащими пестицидами); сельскохозяйственные угодья после обработки пестицидами и гербицидами; домашние печи, использующие отходы деревообрабатывающих предприятий, в том числе пропитанные фенол- и галогенсодержащими веществами.

Производственные процессы

При использовании несовершенных производственных процессов в горнодобывающей химической, нефтехимической, целлюлозно-бумажной, металлургической и других отраслях промышленности практически всегда в тех или иных количествах образуются СЭТ: полихлорированные дибензо-п-диоксины и дибензофураны, бифенилы, хлорбензолы

Использование продукции

Использование продукции (полимеры, минеральные удобрения, красители, полихлорированные бифенилы и др.), в которой СЭТ содержатся изначально или образуются при ее применении, либо в случае аварий. Применение упаковочных материалов и тары, содержащих СЭТ, например, диоксины, винилхлорид. Применение в сельском хозяйстве пестицидов, содержащих полихлорированные и фосфорорганические соединения. Загрязнение пищевых продуктов нитратами и нитритами, при превращении которых в организме образуются N-нитрозамины;

Автомобильный транспорт

Общий объем выбросов загрязняющих веществ автомобильным транспортом в атмосферу в РФ составляет примерно 70% от загрязнений всех видов транспорта или около 40% общего количества антропогенного загрязнения атмосферного воздуха. Загрязнение атмосферы городов происходит прежде всего ПАУ, которые относятся к канцерогенным загрязнителям.

Бытовые и промышленные отходы

Несовершенство технологий: очистки воды, уничтожения промышленных отходов, захоронения и утилизации бытового мусора. Проблемы возникают не только при складировании отходов или их захоронении, но и при сжигании. Считалось, что термические технологии позволяют эффективно обезвреживать токсичные отходы. Однако, сжигание отходов - это источник постоянного поступления СЭТ, например диоксинов, в окружающую среду. В ряде стран были приняты законодательные акты, которые наложили запрет на способы

термического уничтожения отходов. Они должны перерабатываться в полностью безопасные и только затем вывозиться на свалки или сжигаться.

Часть 2

Лекция 4

Физико-химические свойства и распространение в природных средах

В отличие от техногенных выбросов других ксенобиотиков влияние органических СЭТ на среду обитания и человека многие десятилетия оставалось незамеченным. Во многом это было связано с отсутствием высокочувствительных методов анализа большинства СЭТ (например, хлорированных диоксинов и бифенилов). В последние годы, когда появились современные методы аналитического контроля за содержанием СЭТ в объектах окружающей среды, пищевых продуктов и биотканях, стало ясно, что эта опасность несравненно более серьезна, чем загрязнение природной среды другими токсическими веществами. Органические СЭТ обладают большой стабильностью – для их полного разложения требуются столетия.

Полихлорированные диоксины, дибензофураны и бифенилы

Дибензо-*n*-диоксины (ПХДД) – это большая группа гетероциклических полихлорированных соединений, основу которых составляют два ароматических кольца, связанных между собой двумя кислородными мостиками. Дибензофураны (ПХДФ) – молекулы с одним кислородным мостиком. Бифенилы (ПХБ) – два ароматических кольца, связанных обычной химической связью. Оценки баланса поступления хлорированных диоксинов и дибензофуранов в окружающую среду показывают, что в течение года глобальная эмиссия ПХДД и ПХДФ составляет около 500 кг. Большинство ПХДД и ПХДФ представляют собой бесцветные кристаллические вещества, температура плавления которых зависит от степени хлорирования. Они хорошо растворимы в органических растворителях, растворимость в воде уменьшается по мере увеличения содержания хлора. Летучесть диоксинов незначительна, но они могут переноситься воздушными массами в виде аэрозольных частиц в

«сверхвысоких» концентрациях. Более интенсивно испаряются с поверхности воды ПХБ. Значения скорости испарения при 100 °С колеблются в пределах 0.05 – 0.9 мг/(см²* ч).

Диоксины обладают высокой адгезионной способностью к почве, частичкам золы и донным отложениям, что способствует их накоплению и миграции в виде комплексов с органическими веществами и поступлению в воздух, в воду и пищевые продукты. Коэффициент распределения 2,3,7,8-ТХДД в системах почва/вода и биота/вода соответственно равен 23000 и 110000. Кроме того, диоксины, дибензофураны и бифенилы имеют высокую химическую и термическую устойчивость.

Максимальной токсичностью обладают 2,3,7,8-ТХДД, 1,2,3,7,8-Сl₅-ДД, 2,3,7,8-ТХДФ. Указанные соединения имеют токсичность на много порядков выше, чем ДДТ. Высока токсичность и ПХБ. Последовательность изменения токсичности основных представителей галогенированных диоксинов и родственных соединений такова: дибензо-*n*-диоксин > дибензофуран >> бифенил > нафталин. Острая токсичность 2,3,7,8-ТХДД для некоторых животных (например, морских свинок) сопоставима с токсичностью таких ОВ, как табун, зарин, зоман, причем в число опасных входят практически все соединения, содержащие фрагмент 2,3,7,8-Сl₄.

Часть 3

Лекция 5

Хлорорганические пестициды

Показано, что 60% всех гербицидов, 90% фунгицидов и 30% инсектицидов вызывают опухоли у животных. Многие из этих веществ помимо высокой токсичности обладают выраженными кумулятивными свойствами, последствия которых проявляются в изменении иммунологического статуса организма, мутагенном и тератогенном действии. Обострение экологической ситуации в ряде регионов РФ во многом связано с недооценкой опасности высокотоксичных хлорорганических пестицидов (ХОП). Не смотря на то, что

многие из них запрещены к употреблению, продолжается производство гексахлорана, дихлоранилина, линдана, альдрина, гептахлора, 2,4-Д. Большинство ХОП медленно разлагаются под влиянием физических, химических, микробиологических факторов и передаются по пищевым цепям, накапливаясь в опасных количествах в живых организмах.

ХОП - твердые вещества, имеющие высокую термическую стабильность и плохую растворимость в воде, но хорошую растворимость в органических растворителях и жирах. Отличительной особенностью ХОП является присутствие в молекулах бензольных колец. Период полураспада в почве большинства ХОП превышает полтора года, а в случае ДДТ и дильдрина – 15-20 лет. ХОП испаряются с поверхности почвы и воды в воздух, а также попадают в атмосферу при использовании сельскохозяйственной авиации. С воздушными потоками они переносятся на тысячи километров. Фоновые концентрации гексахлорциклогексана (ГХЦГ) в атмосферном воздухе над Атлантическим и Тихим океанами составляют $0.4 - 0.6 \text{ нг/м}^3$, а ДДТ – $0.03 - 1 \text{ нг/м}^3$.

В силу высокой гидрофобности ДДТ и другие ХОП не способны к транслокации в растительности через корневую систему, но хорошо поглощаются листьями и побегами из воздуха. Однако, изомеры ГХЦГ концентрируются и в зеленой массе. ХОП хорошо адсорбируются органическим веществом почвы или донным илом и за счет этого способны перемещаться с поверхностными водами. ХОП в обычных условиях довольно инертны и практически не разлагаются под действием концентрированных кислот, щелочей и воды. Механизмы разрушения ХОП в окружающей среде - фотохимические реакции и процессы метаболизма с участием микроорганизмов. Продуктами такого разложения ХОП часто являются ПХБ. Масштабы антропогенного загрязнения окружающей среды ХОП, их миграция и замедленный метаболизм в природных объектах, биокумуляция обуславливают необходимость организации их постоянного эколого-аналитического мониторинга.

Полициклические ароматические углеводороды

Источниками их поступления в окружающую среду являются: высокотемпературные процессы (лесные пожары, деятельность вулканов); антропогенные факторы (промышленность, сжигание топлива, транспорт)

Основной элемент структуры – бензольное кольцо. Незамещённые и замещённые ПАУ (нитро-, amino, сульфопроизводные, спирты, альдигиды, кетоны, эфиры и др.) в смеси дают синергитический эффект.

Физико-химические свойства: Поглощение УФ-излучения (300 – 420 нм), Фотоокисление в атмосфере до хинонов и карбонильных соединений. За 20 мин разлагается – 84.5 % антрацена, 70.7 тетрафена, 52.0 бенз(а)пирена, 51.5 % хризена, 33.6 % пирена.

ПАУ адсорбированы на аэрозолях сажи (устойчивы несколько недель) и могут быть перенесены на большие расстояния.

ПАУ + N_xO_y → нитропроизводные (канцерогены), ПАУ + O₃ → продукты (мутагены)

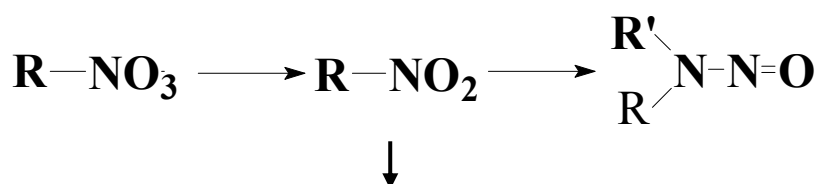
Относительная стабильность ПАУ в городской атмосфере:

Лето: 3,4-бензпирен (1) < 1,2,5,6-дибензантрацен (2) < 1,12-бензперилен (3) < 2,3-о-фениленпирен (4) < антрацен (5) = хризен (6) = тетрацен (7) = коронен (8) = 11,12-бензфлуорантен (9) = 3,4-бензфлуорентен (10) < 1,2-бензпирен (11) < пирен (12) < флуорен (13)

Зима: 1 < 8 = 7 < 2 < 12 = 4 = 9 = 10 = 3 < 6 = 11 < 13

Нитрозамины

Нитрозоамины образуются при длительном хранении, переработке продуктов, мигрируют из упаковочного материала, продуцируются находящимися в пище микроорганизмами и грибами. Давно известна и хорошо изучена способность нитратов, применяемых в качестве азотных удобрений, превращаться в нитриты.



Нитросоединения окисляют гемоглобин в метгемоглобин не способный переносу кислорода. Однако, наибольшая опасность связана с превращением в организме нитратов и нитритов в N- нитрозосоединения, (особенно N-нитрозоамины). Физические свойства зависят от R и R'. N-нитрозоамины чаще всего маслянистые жидкости - хорошо растворимые в органических растворителях; твёрдые вещества нерастворимые в воде. В процессе кулинарной обработки пищевых продуктов – увеличивается содержание N-нитрозосоединений с увеличением температуры и времени обработки.

Токсическое действие – широкий спектр: канцерогенность (10 – 60 мг ЗОП у крыс), мутагенность, эмбриотоксический эффект. ВОЗ рекомендует свести их воздействие для человека до минимума И рекомендует уменьшить ПДК для нитритов в воде до 0.01 мг/л. В РФ – ПДК нормируется: в питьевой воде - 0.03 мкг/день; в воздухе рабочей зоны 2 – 3 мг/м³; ПДК среднесуточное - 50 нг/м³. С продуктами растительного происхождения в организм человека их поступает 70 – 80 % .

Афлатоксины

Среди опасных органических СЭТ, которые встречаются в пищевых продуктах, следует выделить микотоксины – вторичные метаболиты микроскопических грибов, обладающие высокой токсичностью, а в ряде случаев – мутагенными, канцерогенными и тератогенными свойствами, а также они являются гепатотропными ядами. В настоящее время известно более 240 видов различных плесневых грибов, которые выделяют около 100 токсических соединений среди которых находятся и афлатоксины В₁, В₂, G₁, G₂, М₁, М₂. Они загрязняют зерновые бобовые, орехи, чай, семена и т. д., а также продукты их переработки. Афлатоксины хорошо растворимы в умеренно полярных

органических растворителях, в воде на уровне 10 – 20 мг/мл, устойчивы при нагревании на воздухе. Легко разрушаются под действием света и при растворении в высокополярных растворителях. В бензоле и хлороформе афлатоксины сохраняются в темноте в течение нескольких лет.

Центральным звеном мониторинга афлатоксинов должна быть организация контроля за их уровнем в природных объектах и пищевых продуктах, который не должен превышать установленных нормативных значений: например, В₁ – 5 мкг/кг (пищевые продукты), М₁ – 0.5 мкг/кг (молоко и молочные продукты)

Тема 3. Особенности эколого-аналитического мониторинга суперэкоотоксикантов в природных средах

Лекция 6

Мониторинг атмосферных загрязнений

Главными источниками загрязнения атмосферы СЭТ являются промышленные и транспортные выбросы, неправильная эксплуатация печей для сжигания бытовых и химических отходов, открытое сжигание отходов. В отличие от газообразных веществ основная часть СЭТ, в нижних слоях атмосферы находится в воздухе одновременно в парогазовой фазе и в виде аэрозольных ассоциатов субмикронного размера. Большая часть ПАУ находится в виде аэрозольных частиц. Транспорт диоксинов, дибензофуранов и полихлорированных бифенилов в атмосфере также связан с их сорбцией на частичках сажи, пыли, золы и или во влаге с последующим осаждением и испарением. В большинстве случаев они содержатся в воздухе на уровне от 10 (-15) до 10 (-12) г/м³.

Мониторинг поверхностных вод и донных отложений

Природная вода представляет собой многофазную гетерогенную систему открытого типа, обменивающуюся веществами и энергией с другими средами (водные объекты, атмосфера, донные отложения) и с ее биологической

составляющей. В природной воде присутствует множество взвешенных твердых частиц и микропузырьков газов. Кроме того толща воды пронизана микроорганизмами, образующими микробиоту, которая находится в динамическом равновесии с внешней средой и представлена совокупностью гидробионтов. Все эти факторы играют важную роль в формировании качества поверхностных вод и их способности к самоочищению.

Большинство СЭТ плохо растворимо в воде. Происходят процессы их кумуляции в донных отложениях, протекающие главным образом за счет седиментации взвешенных частиц, на которых они хорошо сорбируются. Именно исследование донных отложений позволило судить о загрязнении диоксинами и родственными соединениями водных экосистем в Европе и Северной Америке

Мониторинг почв и растительности

Почва играет роль "депо", куда СЭТ попадают в результате техногенной деятельности человека и переноса выбросов из природных и антропогенных источников. Она не обладает свойством подвижности, характерным для других природных сред, и наиболее подвержена загрязнению. Роль почвы в транспорте СЭТ двоякая: она либо прерывает цепи их миграции к человеку, либо, выступает как источник загрязнения не только сельскохозяйственных продуктов, но и гидробионтов. Многие соединения, попадая на почву, вследствие химических превращений становятся более токсичными, чем исходные. Особого внимания заслуживают проблемы загрязнения почвы стойкими ХОС, связанные с влиянием их на агроландшафты. Они исследуются в рамках международной программы "Человек и биосфера". При оценке загрязнения почвы СЭТ всегда следует иметь в виду ее специфику и разнообразие связанных с почвой природно-климатических условий. Поэтому важны не столько уровни содержания загрязнителей в почве, сколько оценки негативных последствий их воздействия на сельскохозяйственные культуры, животных и человека.

Для ксенобиотиков, даже с учетом коэффициентов аномальности (отношение концентрации токсичного вещества в верхнем слое почвы к его фоновому содержанию), уровни их валового содержания в почве во многих случаях не позволяют адекватно оценить степень негативного влияния на качество сельскохозяйственной продукции и живые организмы. Необходимо знать концентрацию подвижных форм загрязняющих веществ и необходим комплексный подход к оценке поведения СЭТ в почве, который учитывал бы их персистентность, т.е. время полного исчезновения из агросистемы.

Мониторинг живых организмов

В реальных условиях живые организмы являются индикаторами загрязнения окружающей среды. Результаты обследования фауны показывают, что в отличие от наземных животных, для которых важнейшим путем поступления СЭТ является трофический, для гидробионтов значение имеет постоянный контакт с водной средой т. к. морские и пресноводные водоемы - это основные резервуары, куда в конечном итоге попадают загрязняющие вещества.

Представители фауны эффективно удерживают хорошо растворимые в жирах ПАУ, ХОП, ПХБ, ПХДД и ПХДФ. В ходе метаболизма возможно образование и более токсичных соединений, чем исходные (например, нитрозаминов), что требует особого внимания при оценке степени загрязнения среды обитания.

Мониторинг трансграничных загрязнений

Проблема трансграничных переносов СЭТ выдвинута в связи с переносом в атмосфере на большие расстояния радионуклидов и появлением глобальных радиоактивных выпадений. Отмечено распространение на большие расстояния и многих органических СЭТ. Это связано с ростом объема выбрасываемых веществ. Приоритетное внимание уделяется веществам, имеющим высокую токсичность и стабильность. Применение ДДТ и других ХОП привело к глобальному загрязнению природной среды. Об этом можно судить по тому

факту, что ДДТ обнаружен в самых отдаленных районах земного шара, в том числе в Арктике и Антарктиде. Мониторинг трансграничных переносов проводится в рамках общеевропейской программы ЕМЕР, которая охватывает около 100 наблюдательных станций более чем в 25 странах, где ведутся многочисленные исследования трансграничных переносов. Однако, основная часть данных по трансграничным переносам получена на основе расчетных моделей, которые потребовали многочисленных допущений.

Трансграничные переносы в меридиональном направлении происходят более медленно, чем в широтном. Вследствие этого для северного и южного полушарий характерны свои фоновые уровни загрязнений. Концентрацию СЭТ определяют с помощью шаров-зондов, аэростатов, самолетов и наземных станций контроля. Наиболее полные данные получены о распространении радионуклидов, поскольку именно они представляют наибольшую опасность для человечества. Современные оценки показывают, что атмосферные переносы и органических СЭТ являются важнейшими источниками загрязнения окружающей среды в мировом масштабе.

Выявление источников

Ключевым вопросом выявления источников СЭТ является организация системы наблюдений за ними, прогнозирования воздействия на окружающую среду и человека. Эколого-аналитический мониторинг должен включать в себя наблюдение за источниками и местами хранения отходов. Это осуществляется, например, путем регулярного контроля за примесями СЭТ в источниках и отходах производства, их выбросами в природную среду. Для каждого СЭТ должны устанавливаться индивидуальные нормативы ПДВ и ПДС в зависимости от расположения по отношению к жилым районам, наличия выбросов других загрязняющих веществ, влияния условий рассеивания, рельефа местности, погоды и др.

Тема 4. Общие вопросы аналитической химии суперэкотоксикантов

Лекция 7

Природные матрицы являются одними из наиболее сложных объектов аналитической химии при определении СЭТ, присутствующих в следовых количествах. Анализ не ограничивается решением традиционных аналитических задач ("чего и сколько"), а требуется ответить на вопросы об источниках и путях попадания СЭТ в окружающую среду. Проблемам определения СЭТ интересовались и ранее. Такой анализ играет важную роль при решении задач санитарии и охраны труда в атомной и химической промышленности, в контроле качества пищевых продуктов и фармацевтических препаратов. Однако, эти работы мало отличались от обычного определения примесей на уровне микро- и ультрамикрoконцентраций. Изменения произошли при решении задач экологии, медицины и др. областей. На основе достижений физических и физико-химических методов анализа, прежде всего хроматографии и масс-спектрометрии, сформировалась самостоятельная область аналитической химии - анализ органических СЭТ. Аналитическая химия СЭТ имеет свои разработки по пробоотбору, выделению и разделению анализируемых компонентов, методам детектирования следовых количеств и др. Развитие этой области оказывает воздействие на биохимию, клиническую химию, медицину, для которых проблема определения СЭТ на следовом уровне является также актуальной. Большое значение приобретает контроль СЭТ в пищевых продуктах и в продукции, выпускаемой фармацевтической промышленностью, которые должны иметь чрезвычайно высокую степень чистоты и проверяться на отсутствие высокотоксичных примесей. Так, согласно существующим стандартам, широко применяющаяся в качестве гербицида аминная соль 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты должна содержать не более 0,2 мкг/кг ТХДД а любой лекарственный препарат должен изучаться с точки зрения его метаболизма.

Особенности анализа следовых количеств загрязняющих веществ

За следовые принимают концентрации веществ в диапазоне от миллионных долей (10^{-4} %) и ниже. Методы анализа следовых количеств СЭТ могут быть применены только после предварительного выделения следовых компонентов из матрицы и их концентрирования. Широкому внедрению методов определения органических СЭТ, послужило принятие нормативно-технических документов, регламентирующих требования к организации и проведению их эколого-аналитического мониторинга. Введение этих документов в действие базируется на умении химиков-аналитиков точно идентифицировать и определять токсичные органические соединения на уровне следовых количеств в самых различных природных матрицах.

Трудности заключаются в отсутствии типовых схем, разделения и концентрирования. В лучшем случае можно применять типовые схемы их разделения на группы. Классическим примером может служить схема разделения ХОС методом колоночной хроматографии на силикагеле. Однако, добиться полного группового разделения, как правило, не удастся.

Другой проблемой является отсутствие методов, специфичных и чувствительных для соединений различных классов. Разработанные приборы с масс-спектрометрическими детекторами частично снимают эту проблему. Ряд компонентов (ПХДД, ПХДФ, ПХБ и др.) удастся идентифицировать благодаря применению взаимно дополняющих методов, например, газо-жидкостная хроматография - масс-спектрометрия (ГЖХ-МС), газо-жидкостная хроматография - фурье-спектроскопия в инфракрасной области (ГЖХ-ИК-ФС). С помощью ГЖХ-МС можно определить молекулярную массу вещества и получить данные о его структуре, информация о идентификации функциональных групп может быть получена методом ГЖХ-ИК-ФС. Но пока не разработаны методы, с помощью которых можно определять следовые количества СЭТ непосредственно в матрице без предварительного разделения и концентрирования.

Из-за высокой токсичности СЭТ результаты их анализов, как правило, являются основой для принятия решений. Поэтому необходимо располагать

объективными критериями оценки правильности результатов аналитических измерений. Обеспечение достоверности предъявляет высокие требования к квалификации аналитиков, которые должны владеть знаниями и методами аналитической химии и математической статистики, для планирования качества химического анализа с целью минимизации и предупреждения погрешностей, выявления причин, вызывающих ошибочные результаты.

Методы скрининга в анализе суперэкотоксикантов

Анализ следовых количеств СЭТ чрезвычайно дорог. Необходимы быстрые и простые методы их обнаружения. Поэтому применяют методологию скрининга, которая допускает неправильные положительные результаты (на уровне ПДК), но полностью исключает неправильные отрицательные результаты. Пробы, давшие положительный результат, анализируются далее с применением более совершенных и чувствительных методов, а отрицательные результаты скрининга принимают без дополнительной проверки. Анализы должны быть максимально автоматизированы, что позволяет сократить объем работы и удешевить стоимость контроля. В качестве примера скрининга можно привести изучение 419 образцов на содержание афлатоксинов, из которых 19% дали положительную реакцию. ХМС - исследование подтвердило результаты.

Представляют интерес методы иммунохимического анализа, которые имеют высокую чувствительность и дают положительную реакцию в присутствии большинства СЭТ на уровне 10^{-12} - 10^{-9} г/л. Надежность результатов скрининга повышается при использовании двух независимых методов, например иммунохимического анализа и тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Необходимо учитывать - полученные результаты являются ориентировочными.. Только при надежной идентификации заранее известных или предполагаемых загрязнителей возможен оперативный контроль за их содержанием. Отсутствие такой информации переводит задачу из сферы оперативно контроля в ранг разведочного анализа.

При скрининге применяются качественные и полуколичественные методы

анализа, например цветные реакции в индикаторных трубках (газообразную пробу пропускают через слой сорбента, модифицированного селективным реагентом). ДДТ и альдрин в растениях можно обнаружить по окрашенным пятнам на индикаторной бумаге, пропитанной 1%-ным раствором о-толуидина в ацетоне: достаточно выдержать влажный срез растения в контакте с бумагой. Однако в настоящее время ощущается большая потребность в оперативных, простых и чувствительных методах определения органических СЭТ.

Оценка качества результатов анализа

Выборка аналитических данных, полученных в результате ЭАК, при решении информационных задач, должна удовлетворять принципу необходимости и достаточности на каждом уровне (локальном, региональном, федеральном и т.д.). Совокупность аналитических сведений однозначно описывает состояние и изменения в рассматриваемой экосистеме. Это автоматически предполагает получение значительного объёма аналитических показателей и приводит к использованию комбинированных аналитических методов. Все методики многокомпонентного анализа для таких комбинированных методов можно разделить на два класса: анализ смесей, содержащих множество компонентов, которые рассматриваются как независимые друг от друга соединения и определяются в матрице каждый в отдельности и анализ многокомпонентных смесей, определяемых как единое целое, как один компонент (например, сумма ПХБ, нефтепродукты, сумма фталатов и т.п.). Такие смеси имеют переменный состав, поэтому процедура анализа должна предусматривать усреднение или суммирование всех компонентов или их превращение в один компонент (например, сжигание до CO_2 или перевод всех конгенов диоксинов в один изомер, например – окта-хлор замещённый дибензо-п-диоксин, если анализируется смесь ПХДД).

Принятые методы контроля качества при использовании методик многокомпонентного анализа принципиально не отличаются от однокомпонентных и не учитывают специфику многокомпонентного анализа.

Контроль качества аналитических измерений осуществляется, как правило, путём аттестации методики аналитических измерений и периодического (с заданной периодичностью) оперативного контроля воспроизводимости и контроля погрешности аналитических измерений. В процессе аттестации методики на основании набора результатов измерений, проведенных во всём рабочем интервале концентраций при вариации условий анализа, устанавливаются случайная и систематическая составляющие погрешности аналитических измерений в разных точках рабочего интервала концентраций. На основании этого задаются параметры периодического контроля случайной составляющей и общей погрешности измерений и по выбранным критериям производится контроль соответствия результатов установленным границам их вариации. Контроль случайной составляющей погрешности осуществляется путём сравнения результатов параллельных измерений; контроль общей погрешности аналитических измерений проводится с использованием стандартных образцов, либо методом добавок, методом разбавления и их комбинацией. Такая система аккредитации аналитических лабораторий (центров) введена в действие постановлением Госстандарта России (№ 19 от 02.12.1992 г.) с 1 апреля 1993 г. для проведения работ аккредитованными лабораториями независимо от их ведомственной принадлежности как один из важнейших элементов Государственной системы обеспечения единства измерений. При целевом анализе загрязнителей в окружающей среде такая система достаточно хорошо и надёжно работает, если соблюдаются все поэтапные процедуры анализа при наличии соответствующих стандартов.

Специфика анализа многокомпонентных смесей заключается в том, что: во-первых, обязательным и очень важным этапом является идентификация определяемых компонентов, во-вторых, если определению подлежит очень большое число соединений или компонентов переменного состава, то часто невозможно иметь эталоны и заранее подготовленные градуировочные зависимости для всех этих соединений, а при аттестации методики невозможно осуществить достаточно полную вариацию условий анализа для всех

компонентов для оценки воспроизводимости, зависимость погрешности от концентрации и т.п. Точно также затруднён и периодический контроль точности определения (например, при изменении условий анализа и т.п.), поскольку проводить его по всем компонентам невозможно, а выборочный контроль по отдельным компонентам не даёт представления о точности определения других компонентов. Это значит, что при обычном анализе мы не можем приписать известную погрешность всем определяемым компонентам, т.е. не выполняется условие проведения количественного химического анализа (КХА). Контроль качества в этом случае должен осуществляться не только путём аттестации методики и оценки в определении погрешности каждого компонента (с периодической проверкой этой погрешности), а путём контроля качества измерений в каждом опыте. То есть должен быть осуществлен переход к оценке параметров генеральной совокупности результатов измерений в каждом конкретном случае. Таким образом, на практике получается, что при применении таких методик первым этапом должен быть некий «поисковый», «обзорный» анализ для выявления присутствующих в смеси компонентов, подлежащих определению, после чего должна проводиться градуировка и оценка погрешности определения этих компонентов.

В многокомпонентном анализе необходимо использовать достаточно большой набор внутренних стандартов, который должен включать соединения разных классов с разными функциональными группами, разной полярности и т.п., которые могли бы моделировать поведение разных классов соединений в процессе экстракции, очистки, дериватизации и т.п. Кроме того, использование внутренних стандартов связано с добавлением соединений-эталонов к анализируемой пробе в известных концентрациях и по набору этих соединений можно оценить правильность из определения в каждой пробе, следовательно, осуществлять контроль качества в процессе каждого анализа, в том числе в смесях неизвестного состава. Часто в этих случаях используют определённые ГСО для контроля целого класса соединений (например, фталатов, фенолов и т.д.), так называемые групповые стандартные образцы.

Специфика КХА предоставлена в системе функциональных звеньев его метрологического обеспечения. Определено ведущее место ГСО в аналитических измерениях, где ГСО выступает как средство испытаний, градуировки, поверки аналитических приборов и комплексов, а также для проведения дополнительных работ с «холостыми пробами», лабораторными и полевыми бланками, исключающими возможность артефактов. Отсутствие ГСО практически не позволяет в практике аналитических испытаний иметь объективные критерии технической компетенции аккредитируемых лабораторий.

Тема 5. Методы отбора проб суперэкоотоксикантов Лекция 8

Успехи в решении задач эколого-аналитического мониторинга СЭТ во многом зависят от эффективности аналитического контроля. Для получения достоверной и надежной информации о содержании загрязняющих веществ пробоотбор должен производиться так, чтобы анализируемые образцы были типичными для природных объектов. Представительными являются такие пробы, в которых содержание определяемых ингредиентов не изменяется при отборе проб, их хранении и транспортировке к месту анализа. Однако при определении СЭТ содержащихся в следовых количествах в образце, часто приходится работать с неоднородными матрицами, что усложняет как пробоотбор, так и анализ в целом. Для неоднородных материалов иногда прибегают к *стратификации* (разделению пробы на более однородные части). Этот важный прием широко используется в статистических процедурах с применением классического дисперсионного анализа. Представительность и оценка однородности пробоотбора обеспечиваются планом отбора проб и способом их рандомизации, т.е. возможностями попадания определяемого вещества в пробу.

Отбор проб из воздуха

При отборе проб органических суперэкоотоксикантов возникают методические трудности, так как основная часть их находится в воздухе одновременно в

газообразной и аэрозольной фазах и содержится в очень низких концентрациях. Исходя из этого большинство аналитиков применяют для отбора проб воздуха одновременно фильтры и сорбенты. При этом определяемое вещество вместе с пылью частично осаждается на фильтре, а частично улавливается сорбентом. Благодаря своей простоте этот прием широко применяется в анализе следовых количеств СЭТ. Так, При отборе проб на содержание диоксинов с помощью высокообъемных пробоотборников для отбора аэрозолей воздух сначала пропускают через фильтры из стекловолокна или вату из кварцевого стекла, а затем для поглощения газообразной фазы через патроны с сорбентами. Современные сорбенты позволяют эффективно (80 -100%) улавливать из воздуха газообразную фазу, которая извлекается из ловушки экстракцией в течение 12-48 ч . Иногда для извлечения проб применяют бензол, хлористый метилен, петролейный эфир или смесь гексан-ацетон. Степень извлечения возрастает при ультразвуковой обработке образцов во время экстракции.

Отбор проб воды и атмосферных осадков

Процедуры и техника отбора проб природных и поверхностных вод при определении СЭТ существенно не отличаются от описанных в литературе для других загрязнителей. Вследствие низкого содержания СЭТ в воде для их определения необходима стадия предварительного концентрирования, которую зачастую совмещают со стадией пробоотбора. Иногда вместо отбора отдельных проб можно использовать принцип непрерывного пробоотбора. Во всех случаях во внимание следует принимать возможность изменения состава проб при хранении, основная проблема заключается в отборе такой пробы, которая отражала бы загрязнение водной экосистемы. На состав пробы могут влиять глубина и расположение места ее отбора, температура воды, характер течения и многие другие факторы, которые необходимо учитывать.

При отборе проб атмосферных осадков на содержание СЭТ прежде всего должно быть исключено попадание в пробу посторонних веществ. Стандартные осадкомеры, изготовленные из химически нестойких материалов, для этой цели

непригодны. Для анализа важно собрать первые, наиболее загрязненные порции осадков. Поэтому, как правило, используется ручной способ отбора проб в специальные емкости из химически стойкого стекла или полиэтилена, полученного при высоком давлении. Пробы отбирают на открытой ровной площадке, удаленной не менее чем на 100 м от деревьев, холмов, зданий, линий электропередачи и мелких источников загрязнения атмосферы. Приемная поверхность сосудов для сбора осадков должна быть примерно такая же, что и у стандартного осадкомера. Осадкосборники устанавливают на подставках с таким расчетом, чтобы верхний край приемного сосуда находился на высоте 1,5-2 м поверхности.

Отбор проб почв, донных отложений и растительных материалов

Отбор проб почв, предусматривающий получение характерного для контролируемого объекта (района) статистически усредненного образца, не представляет сложной задачи и редко является специфичным. Программу отбора составляют в зависимости от целей исследования. Точечные пробы отбирают методом конверта по диагонали или другим способом, следя за тем, чтобы каждая проба представляла собой часть гочвы, типичной для исследуемых почвенных горизонтов. При этом представительность пробоотбора определяется в основном правильностью выбора точек отбора и вида проб. Ряд особых требований необходимо соблюдать при отборе проб почвы на территории промышленных предприятий. В частности, выбор точек пробоотбора рекомендуется делать с учетом расположения соответствующих производств и мест хранения отходов, метеорологических условий и т.п. Объединенную пробу готовят из точечных проб. При определении в почве поверхностно-распределяющихся веществ (ПХДД и ПХДФ, ПАУ, ПХБ и др.) точечные пробы отбирают с помощью трубчатого пробоотборника послойно на глубине 0; 5 и 20 см массой до 0,2 кг. При оценке загрязнения почвы летучими соединениями или веществами с высокой способностью к вертикальной миграции (ХОС, нитрозамины и т.п.) пробы отбирают по всей глубине почвенного профиля и помещают в емкости, закрывающиеся герметичными крышками. При невозможности

быстрого анализа пробы хранят в определенных условиях, описанных в методиках. Для хранения проб СЭТ не следует использовать пластмассовые емкости. При необходимости в почву добавляют консервирующие средства, рекомендованные в каждом случае для конкретных методик. Высушивание проб до постоянной массы осуществляют на воздухе смешением с безводным сульфатом натрия или другими способами, после чего их просеивают для удаления посторонних предметов.

Отбор биопроб и пищевых продуктов

К пробам биологического происхождения, в которых предполагается наличие следовых количеств СЭТ, предъявляются особые требования. Важно, чтобы проба была репрезентативной для всего исследуемого организма (человека или животного). В частности, в пробах крови, взятых из различных органов, часто обнаруживаются существенные различия. По этой причине необходимо точно указывать условия отбора проб, в том числе и место отбора в организме. Следует учитывать и особенности биологии исследуемых видов, стадию их развития и степень контактов с природной средой.

Пробы тканей могут отбираться отдельно для каждой из особей, как это рекомендуется при обследовании крупных животных и человека, либо усредняться в единый образец, что нередко делают, например, при отборе проб и анализе крови новорожденных на содержание диоксинов.

Пробу обычно сразу же замораживают и сохраняют до анализа при низких температурах (до $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$). Применяют и другие методы фиксации биологического материала, например в формалине. Иногда ткани перед замораживанием гомогенизируют. Замороженные образцы хорошо сохраняются длительный период и могут находиться в таком состоянии многие годы. Так, в Канаде банк образцов содержит свыше 10 тыс. тканей 210 видов птиц, 43 видов млекопитающих, 50 видов рыб, 11 видов рептилий и 6 видов амфибий. В качестве емкостей для замороженных проб используются фольга или стеклянная посуда.

Тема 6. Методы подготовки проб к анализу

Часть 1

Лекция 9

Развитие аналитической химии СЭТ в настоящее время идет по двум направлениям: разработка максимально селективных и чувствительных методов определения индивидуальных веществ (например, масс-спектрометрия высокого разрешения) и сочетание методов разделения и концентрирования с неселективными методами определения к комбинированным методам анализа. Понятие комбинированные находятся в полном соответствии со смысловым содержанием этого слова: объединённые вместе для достижения общей цели. При этом предварительная подготовка пробы, включающая операции разделения и концентрирования определяемых компонентов, обеспечивает оптимальное измерение аналитического сигнала как функции концентрации или содержания. Следует заметить, что применение комбинированных методов зачастую позволяет получить необходимый результат, отвечающий метрологическим требованиям (предел обнаружения, погрешность, воспроизводимость и т.д.), более быстро и с меньшими материальными затратами, чем при использовании уникального оборудования. Помимо важной роли в комбинированных методах анализа методы разделения и концентрирования имеют для аналитической химии СЭТ самостоятельную ценность. Далеко не всегда можно проанализировать образец без предварительного выделения определяемых соединений из природной матрицы. При этом, как правило, возникает необходимость их концентрирования по отношению к матричным компонентам, присутствующим в растворе или в газовой фазе. Даже такие методы, как ХМС и газовая хроматография в сочетании с ИК-спектроскопией, не всегда могут решить задачи следового анализа. Целью концентрирования является снижение нижнего предела обнаружения, тогда как разделение позволяет упростить анализ и устранить влияние мешающих веществ.

В настоящее время известны десятки различных методов разделения и концентрирования, число которых постоянно увеличивается. О важности и

объеме их применения свидетельствует большое количество методик по определению загрязняющих веществ в природных объектах и пищевых продуктах, которые утверждены в качестве руководящих документов по контролю загрязнений атмосферы, воды и почвы. От выбора методов хранения и предварительной подготовки проб зависит минимизация ошибок при выполнении аналитических определений.

Хранение и предварительная подготовка проб

Ошибки обусловленные хранением проб, содержащих следовые количества загрязняющих веществ, обычно связаны с адсорбцией определяемых компонентов на стенках сосудов или с их трансформацией в процессе хранения, например, что ПХДД, ПХДФ, ПХБ, ПАУ и ХОП, содержащиеся в пробах воды, адсорбируются стенками полиэтиленовых сосудов. Процесс адсорбции во многом определяется природой следового и добавляемого компонентов, свойствами поверхности используемых сосудов и многими другими параметрами, что затрудняет выработку каких-либо рекомендаций.

При хранении проб органических СЭТ резко возрастает опасность из окисления, гидролиза, фотолиза, ферментативных и бактериальных превращений.. Из этого следует, что повышение температуры (даже незначительное) нежелательно при хранении растительных и животных тканей, пищевых продуктов, почв и донных отложений, поскольку возникает реальная опасность получения искажённых результатов. Особые меры предосторожности необходимо соблюдать при хранении проб водопроводной воды, содержащей ПАУ в концентрациях порядка 1-3 нг/л. Установлено, что даже при 5°C при хранении проб хлорированной водопроводной воды 18 сут многие из углеводов исчезают практически полностью. Для устранения потерь ПАУ рекомендуется добавлять к каждой пробе сульфит натрия и хранить пробы в темноте . При добавлении к пробам стабилизаторов всегда необходимо учитывать их свойства и те осложнения, которые могут возникать при анализе из-за применения консервирующих добавок.

Жидкостная экстракция

Среди распространённых на сегодняшний день методов разделения и концентрирования, видимо, одним из важнейших является жидкостная экстракция – распределение вещества между двумя несмешивающимися жидкими фазами. Наиболее часто встречаются системы, в которых одной фазой является вода, а второй – органический растворитель. Многочисленный ассортимент известных к настоящему времени экстрагентов позволяет найти удовлетворительное решение практически для любой задачи. Кроме того, жидкостная экстракция не требует сложного оборудования и выполняется достаточно быстро в делительной воронке или автоматически при использовании экстракторов непрерывного действия. Высокая степень извлечения определяемых компонентов достигается также в перегонно-экстракционных устройствах (аппаратах Сокслета) при одновременной конденсации водяного пара и не смешивающегося с водой растворителя. Такие устройства применяют для концентрирования ПХБ и ХОП, ПАУ, фенолов и других соединений.

Важным преимуществом экстракции является практически полное отсутствие влияния матрицы. По этой причине она является идеальной для разделения смесей органических соединений на группы с последующим использованием методов, основанных на других принципах. Так, с помощью жидкостной экстракции достигается групповое разделение полярных и неполярных органических веществ и разделение полярных веществ на кислые, основные и нейтральные. Следует заметить, что извлечение органических примесей внутри групп, как правило, происходит неселективно, поскольку энергия сольватации для большинства из них превышает энергию гидратации. Кроме того, коэффициенты распределения многих токсичных веществ не столь значительно отличаются друг от друга, чтобы добиться существенного разделения при однократной экстракции.

Экстрагенты, применяющиеся для концентрирования микропримесей из воды, должны удовлетворять достаточно жёстким требованиям: извлекать

определяемое вещество или группу веществ с высоким коэффициентом распределения, иметь низкую летучесть (температура кипения не ниже 50°C) и растворимость в воде, а их плотность должна как можно больше отличаться от плотности раствора. Они не должны также взаимодействовать с компонентами исследуемой системы. В случае анализа следовых количеств суперэкотоксикантов жёсткие требования предъявляются и к чистоте экстрагентов.

Обычно микропримеси загрязняющих веществ концентрируют из 0,5-1л воды несколькими порциями растворителя, конечный объём которого составляет 50-200 мл, при этом коэффициент концентрирования составляет 3-10 и лишь в отдельных случаях 100 (например, при извлечении диоксинов). Степень извлечения определяемых компонентов может быть повышена за счёт введения в водную фазу высаливателей или органических растворителей.

Твёрдофазная экстракция

Для выделения суперэкотоксикантов из жидкостей и газов широко применяют также сорбционные и ионообменные процессы. В последнее время их объединяют понятием «твёрдофазная экстракция» («Solid-Phase Extraction»). Как и в случае колоночной хроматографии, метод основан на специфических взаимодействиях выделяемого компонента с сорбентом при пропускании раствора через патрон со сравнительно малым количеством твёрдой фазы, что в свою очередь требует меньшего расхода растворителей для последующей десорбции сконцентрированных соединений и устраняет необходимость упаривания. В зависимости от объёма отобранной пробы и характера анализируемого вещества экстракция может быть проведена на картридже [63], либо с применением мембранных дисков. В тех случаях, когда матрица представляет собой многокомпонентную систему, требующую детального исследования, применение твёрдофазной экстракции (ТЭФ) позволяет провести фракционирование пробы. На последовательно соединённых патронах можно одновременно выделять и разделять соединения различных классов:

органические и неорганические, полярные и неполярные, ионные и т.д. Такой подход обеспечивает более высокую степень автоматизации процесса пробоподготовки, поскольку процедура экстракции значительно упрощается. Заметим также, что для ТФЭ характерно наличие более широких возможностей варьирования природы и силы специфических взаимодействий между сорбентом и образцом по сравнению с жидкостной экстракцией, вследствие чего происходит более избирательное выделение определяемых компонентов.

В большинстве случаев концентрирующие патроны представляют собой разъёмные капсулы из полиэтилена или фторопласта, заполненные гидрофобными сорбентами на основе силикагелей, полимеров или активных углей с привитыми алкильными, фенильными и нитрильными группами. Наряду с ними выпускаются также патроны для ионообменной ТФЭ, содержащие сорбенты с привитыми аминными, аммониевыми и карбоксильными группами. Если первое используется в основном для выделения нейтральных органических соединений, то вторые – для извлечения органических и природных кислот и оснований.

Часть 2

Лекция 10

Сверхкритическая флюидная экстракция

Сверхкритическая флюидная экстракция (СФЭ) является методом, в котором для извлечения определяемых веществ используются сверхкритические жидкости (флюиды). В основном она применяется для избирательного выделения микрокомпонентов из твёрдых матриц (растительные и животные ткани, пищевые продукты, почвы), а также для экстракции летучих веществ из сорбционных трубок (картриджей, мембранных дисков), содержащих тенакс, активный уголь или пенополиуретан, при анализе воды и воздуха. По сравнению с обычными жидкостями флюиды имеют более высокие транспортные свойства (примерно в 10^2 раз выше), низкую плотность и вязкость (промежуточные между жидкостями и газами), что способствует быстрому экстрагированию и разделению фаз. При этом растворяющая

способность флюидов может изменяться в широком диапазоне за счёт изменения давления или температуры. Особый интерес представляет CO_2 , который позволяет достичь больших степеней извлечения многих суперэкоотоксикантов при умеренном температурном воздействии на определяемые компоненты. Нельзя не учитывать и такое достоинство флюида CO_2 , как доступность в чистом виде и возможность сброса в атмосферу без заметного вреда для окружающей среды. Иногда в него дополнительно вводят модификаторы (воду, метиловый спирт, пропиленкарбонат и др.). Последние позволяют повысить избирательность экстракции, изменяя растворимость. Дополнительными преимуществами сверхкритического CO_2 являются его низкая стоимость, инертность, негорючесть и нетоксичность.

Выбор оптимального режима СФЭ определяется природой лимитирующих стадий. Если скорость экстракции лимитируется скоростью диффузии извлекаемых компонентов из глубины матрицы к её периферии, то частицы пробы должны иметь малый размер, а температура должна быть по возможности высокой, но не вызывающей деструкции экстрагируемых веществ. Однако не следует применять слишком мелкие частицы, поскольку могут возникнуть проблемы с распределением растворителя в объёме образца. Необходимо также контролировать вязкость флюида; чем она меньше, тем выше скорость экстракции. При высокой скорости диффузии растворенного вещества скорость экстракции прямо пропорциональна площади поверхности границы раздела фаз. СФЭ применяют для извлечения малолетучих органических соединений (ХОП, ПХБ, ПАУ, ПХДД, ПХДФ и др.) из воды, сорбционных патронов, растительных масел, морских отложений тканей животных и человека, N-нитрозаминов из продуктов.

Хроматографические метод

К хроматографическим методам разделения и концентрирования относят процессы распределения веществ между подвижной (жидкой или газовой) и неподвижной (твёрдой или жидкой) фазами. На применении хроматографии в

настоящее время базируется большинство современных методов пробоподготовки при анализе суперэкоотоксикантов, особенно в случае следовых количеств. Среди них наибольшее распространение получила жидкостная хроматография, в основе которой лежит распределение вещества между неподвижной твердой и подвижной жидкой фазами. Существуют различные виды взаимодействия между разделяемыми соединениями и твердой фазой: адсорбция, ионный обмен, гель-фильтрация и др. В наиболее часто применяемой адсорбционной хроматографии разделение составных частей пробы достигается благодаря различиям полярности органических веществ. При этом компоненты пробы адсорбируются на поверхности твердой фазы и удерживаются на ней благодаря образованию нековалентных (например, водородных или гидрофобных) связей или за счет сил Ван-дер-Ваальса. В ионообменной хроматографии из подвижной фазы на твердом ионообменнике сорбируются противоположно заряженные ионы (органические и неорганические), тогда как в гель-хроматографии в качестве твердой фазы применяются гели, содержащие поры определённого диаметра. Молекулы, размер которых больше диаметра пор, не могут проникнуть внутрь геля. Поэтому при прохождении подвижной фазы в первую очередь элюируются соединения с молекулами большего размера. Для выделения органических суперэкоотоксикантов из экстрактов применяют различные сорбенты: силикагель, кремниевую кислоту, оксид алюминия, флоризил (силикат магния) фосфат кальция, активный уголь, целлюлозу, полимерные смолы и др. Классическим примером могут служить методы разделения ХОП и ПХБ с помощью флоризила и арохлора. Большое число работ посвящено выделению ХОС и ПАУ с применением колоночной хроматографии на силикагелях. Установлено, что степень разделения ПХБ и ХОП зависит от пористости и удельной поверхности силикагелей, условий их активации и содержания воды. Интересные результаты получены при использовании двух колонок, заполненных оксидами алюминия и кремния.

Разделение с помощью мембран и электрофореза

В отличие от хроматографии, которая имеет жёсткие ограничения по количеству разделяемых веществ, мембранные методы, не давая преимуществ по избирательности, позволяют добиться большей производительности разделений. Принципиальной основой этих методов является способность веществ проникать через мембраны в зависимости от их молекулярной массы. При этом перенос вещества через мембрану может осуществляться тремя способами: молекулярная диффузия за счёт градиента концентраций или температуры; электромиграция заряженных частиц в электрическом поле; перенос вещества под действием градиента давления. Примеры использования последних в анализе СЭТ немногочисленны, хотя мембранное разделение является одним из лучших методов для отделения анализируемых веществ на уровне следовых количеств от связанных с ними белков. Так, с помощью мембран выделяют микотоксины в концентрациях порядка 1-4000 мкг/кг из кормов и печени свиней.

Новые перспективы для применения мембран открывает хроматомембранный метод разделения органических веществ, сочетающий преимущества парофазного анализа и мембранного концентрирования. В случае реализации данного метода массообмен между жидкой и газовой фазами происходит в пористом блоке, состоящем из полимерного материала. При этом обеспечиваются высокая эффективность и непрерывный режим процесса.

Наряду с мембранными методами для разделения заряженных частиц или молекул можно использовать их различную подвижность в электрическом поле – зонный электрофорез. Описано лишь несколько случаев применения электрофореза в анализе СЭТ. Тем не менее этот метод вызывает в последние годы повышенный интерес, особенно его капиллярный вариант. Основные его перспективы связаны с разделением и анализом биологических объектов. Возможность разделения субмикрочастиц анализируемых веществ позволяет проводить определения в мицеллах или даже в отдельных клетках. Особенно заманчиво применение капиллярного зонного электрофореза для

определения высокотоксичных веществ *in vivo* без отбора проб, поскольку повышается надёжность метода и уменьшается время анализа.

Упаривание и дистилляция

При определении СЭТ после стадий разделения и концентрирования практически всегда возникает необходимость упаривания раствора с целью уменьшения его объёма. Несмотря на кажущуюся простоту эта операция может существенным образом влиять на конечный результат, поскольку, как отмечалось выше, многие вещества при нагревании разлагаются или превращаются в другие соединения. Кроме того, в процессе упаривания возможны потери определяемых компонентов из-за заметного давления паров при комнатной температуре. Тем не менее упаривание применяют даже тогда, когда оно может служить источником погрешностей. В частности, при определении летучих органических соединений методом ГЖХ анализируемый раствор упаривают, а остаток растворяют в небольшом количестве растворителя и вводят в колонку хроматографа. Чаще всего для этих целей применяют специальные приборы, например Кудерны-Даниша, которые позволяют упарить раствор до нескольких миллилитров при минимуме потерь, или роторные испарители. При определении СЭТ в следовых количествах упариванию должны подвергаться только низкокипящие растворители (дихлорэтан, хлористый метилен, метанол, гексан и др.). Иногда к ним добавляют растворители с более высокой температурой кипения (0,5-1%), которые смачивают стенки перегонной колбы и способствуют удерживанию следового компонента в растворе благодаря предотвращению его необратимой сорбции на её стенках.

Полезный метод отделения следовых количеств веществ представляет перегонка с паром. Этот метод, главным образом перегонка с водяным паром, используется, в частности, для разделения соединений на группы, например для отделения летучих веществ от нелетучих (белков, жиров и т.п.) и выделения следовых количеств ХОП из природных вод. Предварительно следует

выяснить, не разрушается ли определяемое вещество при температуре отгонки. В противном случае следует применять отгонку с паром при пониженном давлении. Отогнанные соединения обычно извлекают из конденсата жидкостной экстракцией. Иногда применяют перегонку с другими растворителями (метанол, циклогексан и т.п.) [123]. В другом варианте добавляют растворитель, кипящий при сравнительно низкой температуре, но с которым совместно отгоняются определяемые компоненты, например дихлорметан. Этот приём даёт хорошие результаты при отделении суперэкотоксикантов от веществ, содержащих природные липиды, которые хорошо растворяются в дихлорметане .

Тема 7. Методы определения суперэкотоксикантов

Часть 1

Лекция 11

Развитие методов определения СЭТ, направлено на увеличение их чувствительности, точности, специфичности и воспроизводимости, а также на упрощение техники измерений. В методах определения наблюдается то же, что и в методах разделения, достаточно широко применяется ограниченное число методов. При выборе метода руководствуются следующими критериями: способность метода обеспечивать непосредственное и специфичное измерение аналитического сигнала аналита; чувствительность, рабочий диапазон концентраций, предел обнаружения, информативность; влияние мешающих компонентов и факторов; возможность автоматизации. Большинство применяемых методов с успехом можно использовать в диапазоне рабочих концентраций от 1 до 100 мкг/л и выше. Для более низких концентраций необходимо предварительное концентрирование определяемых компонентов или их отделение от матрицы, однако на этих стадиях возможны потери и изменение состава анализируемых веществ.

Газовая хроматография. Хромато-масс-спектрометрия

Не менее 90% всех публикаций, посвященных определению ПХДД, ПХДФ, ПХБ и других высокотоксичных ксенобиотиков в природных объектах и биопробах, тем или иным образом имеют отношение к хромато-масс-спектрометрии (ХМС). Такие достоинства масс-спектрометрии, как высокая чувствительность, селективность, анализ проб в разных агрегатных состояниях, быстрота определений, возможность идентификации соединений делают ее незаменимым методом при мониторинге СЭТ на различных стадиях исследования. Она незаменима как на первом этапе, когда требуется детальный анализ сложных смесей с подтверждением их состава, так и в дальнейшем, когда рутинный анализ можно выполнять с помощью более простых методов, но необходимы контрольные и арбитражные определения.

Основной принцип ХМС состоит в хроматографическом разделении определяемых соединений, их ионизации и детектировании ионов по величине отношения массы к заряду, которое осуществляется в масс-спектрометре. Соединения хроматографа с масс-спектрометром – это не просто объединение двух разных приборов для решения одной задачи, а появление нового метода со своими особенностями и возможностями. Его можно использовать даже в тех случаях, когда вещества не удастся разделить хроматографически. Как правило, в ХМС используются серийные газовые хроматографы с капиллярными колонками (ГХ-МС). При этом разделение смеси веществ осуществляется методом газовой хроматографии, а масс-спектрометр выполняет роль высокоэффективного детектора. Очевидно, что ХМС в варианте ГХ-МС применима для определения только тех веществ, которые имеют достаточно высокую летучесть и термически стабильны, что является немаловажным ограничением, стимулирующим разработку приборов, в которых масс-спектрометр сочетают с жидкостным хроматографом (ЖХ-МС).

Часть 2**Лекция 12****Высокоэффективная жидкостная хроматография**

Метод ВЭЖХ в последние годы по праву считается одним из наиболее важных в аналитической химии следовых количеств пестицидов и ПАУ, в анализе пищевых продуктов и фармацевтических препаратов. В отличие от ГХ этот метод используется для определения термически нестойких, нелетучих или очень полярных соединений, но в то же время может быть применён и для анализа веществ, которые обычно определяют с помощью высокоэффективной газовой хроматографии. Начав развиваться с середины 60-х годов, этот метод первое время существенно проигрывал из-за отсутствия подходящих сорбентов для заполнения колонок. С появлением привитых фаз насадочные колонки стали обеспечивать воспроизводимые результаты, что сделало ВЭЖХ идеальным инструментом для определения термически неустойчивых соединений. Большинство пестицидов (включая хлор- и фосфорорганические производные), ПАУ, относительно нелетучие высокомолекулярные загрязнители, могут быть определены с помощью ВЭЖХ.

Часть 3**Лекция 13****Методы оптической спектроскопии и люминесценции.****Вольтамперометрия**

Осознание важности экологических проблем заставляет исследователей привлекать для контроля СЭТ все современное высокочувствительные методы аналитической химии. Так, при определении низких содержаний ионов высокотоксичных металлов в основном применяются методы оптической спектроскопии и люминесценции (атомно-эмиссионная спектроскопия с возбуждением от высокочастотного плазменного факела (ИСП-АЭС), атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС) с электротермической атомизацией и др.), а также инверсионная вольтамперометрия (ИВА) с химически модифицированными электродами. Для определения органических СЭТ наряду с хроматографией наблюдается тенденция к более широкому использованию

хромато-масс-спектрометрии, иммунохимических и флуоресцентных методов. В области разработки методов контроля за состоянием загрязнения природных сред СЭТ имеется много нерешенных проблем. Это относится к методам экспрессного определения органических веществ.

Надёжным, экспрессным и высокочувствительным методом контроля СЭТ, позволяющим определять как суммарное содержание загрязняющих веществ, так и индивидуальных соединений, является люминесцентный метод анализа. Предел обнаружения которых сравним с пределом обнаружения радиоаквационного анализа. Наибольшее применение находят фотолюминесцентные методы (флуоресценция и фосфоресценция), источником возбуждения, в которых служат ртутно-кварцевые лампы. Предварительные аналитические операции аналогичны тем, которые применяются в спектрофотометрии. В результате химических реакций между реагентом и определяемым веществом образуются флуоресцирующие соединения, по интенсивности свечения которых определяют концентрацию исследуемого компонента. В обычных условиях спектры поглощения и люминесценции многоатомных органических молекул вследствие внутримолекулярного и межмолекулярного взаимодействий состоят из широких полос ($\approx 1000 \text{ см}^{-1}$) и имеют малую характеристичность. Глубокое охлаждение растворов до температуры жидкого азота уменьшает энергию указанных взаимодействий и в ряде случаев позволяет выявить линейчатую структуру спектров люминесценции (эффект Шпольского). Этот прием используется для определения ПАУ и включает в себя их концентрирование путем экстракции н-гексаном, а затем идентификацию и количественное определение. Например, определение бенз(а)пирена проводят по линейчатым спектрам флуоресценции экстрактов. Предел обнаружения с использованием внутренних стандартов составляет 10^{-7} - 10^{-8} %, а в случае метода добавок – до $3 * 10^{-9}$ %.

Применение единого стандарта для определения ПАУ требует объективной оценки правильности результатов. Пока метод единого стандарта в полной мере апробирован лишь при определении бенз(а)пирена на фоновом уровне, т.е. в

анализа вод, воздуха, почвы с очень низким содержанием ПАУ. В случае сточных вод, промышленных выбросов и отходов производства наряду с ПАУ могут содержаться большие количества других органических СЭТ. Вопросы взаимодействия компонентов смеси как в жидких, так и в твердых растворах сложны и во многом не изучены. Так, при анализа сточных вод наблюдается свечение, вызываемое карбонильными группами органических соединений.

Часть 4

Лекция 14

Использование ферментативных и иммунохимических реакций

Помимо разнообразных методов инструментального анализа для определения СЭТ применяют также микро- и ультрамикрометоды обнаружения, основанные на ферментативных и иммунохимических реакциях. Основная сфера применения ферментативных и иммунохимических методов ограничивается веществами, угнетающими ферментные системы и вызывающими в живом организме образование антител. К ним относится большинство СЭТ. Предел обнаружения ферментативных и иммунохимических методов очень низок; в отдельных случаях удаётся определять исследуемые соединения на уровне 10^{-16} моль и ниже. Механизм получения информации о составе анализируемых объектов в этом случае аналогичен природным процессам. Применение этих методов позволяет обойтись без трудоёмкой работы по подготовке проб к анализу либо упростить её. Развитие ферментативных и иммунохимических методов анализа обусловлено усилиями исследователей в двух направлениях.

Ферментативные методы

Использование ферментативных реакций является частным случаем кинетических методов анализа, основанных на измерении скорости индикаторной каталитической реакции в присутствии различных количеств СЭТ. Для правильного применения ферментов при определении СЭТ

необходимо знать их специфичность по отношению к исследуемым компонентам в условиях, близких к условиям проведения анализа.

Обязательным компонентом фермента является белок с молекулярной массой от десяти тысяч до нескольких миллионов, который либо сам является катализатором индикаторной реакции, либо становится таковым при образовании комплексов с коферментами или ионами металлов. Скорость ферментативной реакции зависит от природы субстрата и фермента, температуры, состава среды, в которой протекает реакция и др. Характер указанных зависимостей различен для разных ферментов и требует специальных исследований при выборе оптимальных условий определений. Кроме того, активность ферментов во многом зависит от присутствия в системе субстрат-фермент эффекторов – веществ, которые ингибируют или ускоряют каталитический процесс. В частности, к ним относятся и СЭТ. Круг ферментов достаточно широк, однако практический интерес представляют лишь те, которые имеют высокую специфичность и обеспечивают низкие пределы обнаружения. На практике из большого числа ферментов при определении СЭТ внимания заслуживают около 20, причём в иммобилизованном состоянии. Среди них широкое применение находят холинэстеразы, относящиеся к ферментам-гидролазам. Различают два класса холинэстераз: ацетилгидролазы ацетилхолина и ацилгидролазы ацилхолина, включающие широкий перечень различных холинэстераз, в том числе и бутирилхолинэстеразу.

Иммунохимические методы

В ответ на попадание в живой организм чужеродных веществ (СЭТ) в нём вырабатываются антитела, как отклик иммунной системы организма. Последние специфично взаимодействуют с этими веществами с образованием комплексов, что в итоге приводит к их «нейтрализации» и выводу из организма. На использовании данных взаимодействий и возможности получения необходимых антител и базируются иммунохимические методы анализа. Стремление создать специфичные и эффективные методы определения в воде,

воздухе и почве остаточных количеств токсичных веществ и снизить их стоимость во многом явилось стимулом к разработке указанных методов. Иммунохимические методы имеют высокую чувствительность и специфичность, позволяют определять высокотоксичные соединения даже без выделения из матрицы.

В основном эти методы применяются в клинической медицине и ветеринарии и лишь в последнее десятилетие привлекли внимание аналитиков-экологов, например, для скрининга полихлорированных диоксинов и бифенилов, хлорсодержащих пестицидов и токсафенов в объектах окружающей среды, сточных водах и отходах производства. С помощью иммунохимических методов можно оценить общее содержание ПХДД в пробах воды в течение 1 ч.

Несмотря на отмеченные достижения в создании иммуносенсоров, в том числе и для определения суперэкоотоксикантов, в целом их внедрение в практику связано со значительными трудностями, хотя в лабораторных условиях они демонстрируют несомненные преимущества перед инструментальными методами. Наибольшего внимания заслуживают те методы, которые позволяют проводить анализ на месте отбора проб, т.е. on site.

Занятие 15 Обобщение материала

Занятие 16 Консультации

Занятие 17 Зачёт

Форма итогового контроля ЗАЧЕТ (8 семестр)

Перечень примерных вопросов предлагаемых в билетах к зачету

- 1 Единая государственная система экологического мониторинга. Эколого-аналитический контроль. Эколого-аналитический мониторинг.
- 2 Полихлорированные диоксины. Физико-химические свойства. Источники загрязнения. Распространение в природных средах. Опасность для окружающей среды.
- 3 Хромато-масс-спектрометрия.

Методические указания спецкурса предназначены для студентов химических, биологических и медицинских специальностей вузов, а также для специалистов в области охраны природы и аналитической химии объектов окружающей среды.

Учебно-методическое обеспечение

Рекомендуемая литература (основная)

- 1 Кузьмин Н.М., Нейман Е.Я., Попов А.А. Системы эколого-аналитического контроля в действии. М., 1994.
- 2 Израэль Ю.А. Экология и контроль состояний природной среды. М.: Гидрометеиздат, 1984.
- 3 Майстеренко В.Н., Ключев Н. А. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей. М., 2004 (Лаборатория знаний).
- 4 Федоров Л.А. Диоксины как экологическая опасность: ретроспектива и перспективы. М.: Наука, 1993.
- 5 Ровинский Ф.Я., Воронова Л.Д., Афанасьев М.И. и др. Фоновый мониторинг загрязнения экосистем суши хлорорганическими соединениями. Л., 1990.
- 6 Ровинский Ф.Я., Теплицкая Т.А., Алексеева Т.А. Фоновый мониторинг полициклических ароматических углеводородов. Л., 1988.

Рекомендуемая литература (дополнительная)

- 1 Методические рекомендации по обнаружению, идентификации и определению содержания афлатоксинов в пищевых продуктах. М., 1981.
- 2 Ситуация с диоксинами и родственными соединениями в Башкортостане. Итоговый отчет по результатам выполнения Республиканской программы «Диоксин» в 1994 г. Уфа, 1994.
- 3 Ошин Л.А., Треггер Ю.А., Моцарев Г.Ф. Промышленные хлорорганические продукты. М.: Химия, 1978.

Список принятых сокращений

ВОЗ – всемирная организация здоровья	ПВХ – поливинилхлорид
ВСВ – временно согласованный выброс	ППУ – пенополиуретан
ВСС - временно согласованный сброс	ПХБ – полихлорированные бифенилы
ЕГСЭМ – единая государственная система экологического мониторинга	ПХДД – полихлорированные дибензо- <i>n</i> - диоксины
ЕРА – агентство по охране окружающей среды США	ПХДФ – полихлорированные дибензофураны
МАИР – международное агентство изучения рака	ФОП – фосфорорганические пестициды
ОБУВ – ориентировочно безопасный уровень воздействия	ФОС – фосфорорганические соединения
ОДК– ориентировочно допустимая концентрация	ХОП – хлорорганические пестициды
ПДВ – предельно допустимый выброс	ХОС – хлорорганические соединения
ПДК – предельно допустимая концентрация	ААС – атомно-абсорбционная спектроскопия
ПДС – предельно допустимый сброс	АЭС – атомно-эмиссионная спектроскопия
ЭТ – эквивалент токсичности	ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
МСЗ – мусоросжигающий завод	ГЖХ - газожидкостная хроматография
ЭМ – экологический мониторинг	ГХ – газовая хроматография
ЭАМ – эколого-аналитический мониторинг	ХМС – хромато-масс-спектрометрия
ЭАК – эколого-аналитический контроль	ДЭЗ – детектор электронного захвата
ГХЦГ – Гексахлорциклогексан	ИВА – инверсионная вольтамперометрия
ДМФА – диметилформамид	ИФА – иммуноферментный анализ
2,4-Д – дихлорфеноксиуксусная кислота	СФЭ – сверхкритическая флюидная экстракция
ДДД – 4,4'-дихлордифенилдихлорметил- метан	ТСХ – тонкослойная хроматография
ДДТ – 4,4'-дихлордифенилтрихлор- метилметан	ТФЭ – твёрдофазная экстракция
ДДЭ – 4,4'-дихлордифенилдихлорэтилен	УМЭ - ультрамикрорэлектрод
ПАУ – полиароматические углеводороды	УПЭ – угольно-пастовый электрод
	ФЛД – флуоресцентный детектор
	ХМК – химически модифицированные кремнезёмы
	ХМЭ - химически модифицированный электрод

Содержание

Введение -----	2
Тема 1. Проблемы эколого-аналитического мониторинга загрязнений окружающей среды -----	3
Часть 1	Лекция 1
Основные определения. Задачи и схема эколого-аналитического мониторинга	3
Эколого-аналитический мониторинг загрязнений в составе Единой государственной системы экологического мониторинга (ЕГСЭМ) -----	3
Основные задачи эколого-аналитического мониторинга суперэкоотоксикантов	4
Часть 2	Лекция 2
Нормативно-техническое и методическое обеспечение, правовая регламентация эколого-аналитического мониторинга суперэкоотоксикантов -----	5
Анализ существующей обстановки в РФ и других странах в связи с загрязнением окружающей среды суперэкоотоксикантами-----	7
Тема 2. Классификация суперэкоотоксикантов: физико-химические свойства и распространение в природных средах -----	11
Часть 1	Лекция 3
Классификация суперэкоотоксикантов по степени опасности для окружающей среды -----	11
Основные источники суперэкоотоксикантов (производственные процессы, использование продукции, автомобильный транспорт, бытовые и промышленные отходы) -----	12
Часть 2	Лекция 4
Физико-химические свойства и распространение в природных средах Полихлорированные диоксины, дибензофураны и бифенилы-----	14
Часть 3	Лекция 5
Хлорорганические пестициды-----	15
Полициклические ароматические углеводороды -----	17
Нитрозамины -----	17
Афлатоксины -----	18
Тема 3. Особенности эколого-аналитического мониторинга суперэкоотоксикантов в природных средах -----	19
	Лекция 6
Мониторинг атмосферных загрязнений-----	19
Мониторинг поверхностных вод и донных отложений-----	19

Мониторинг почв и растительности-----	20
Мониторинг живых организмов-----	21
Мониторинг трансграничных загрязнений-----	21
Выявление источников загрязнений -----	22

Тема 4. Общие вопросы аналитической химии суперэкоотоксикантов ----- 22

Лекция 7

Особенности анализа следовых количеств загрязняющих веществ -----	23
Методы скрининга в анализе суперэкоотоксикантов -----	25
Оценка качества результатов анализа -----	26

Тема 5. Методы отбора проб суперэкоотоксикантов» ----- 29

Лекция 8

Отбор проб из воздуха -----	29
Отбор проб воды и атмосферных осадков -----	30
Отбор проб почв, донных отложений и растительных материалов -----	31
Отбор биопроб и пищевых продуктов -----	32

Тема 6. Методы подготовки проб к анализу ----- 33

Часть 1

Лекция 9

Хранение и предварительная подготовка проб -----	34
Жидкостная экстракция -----	35
Твёрдофазная экстракция -----	36

Часть 2

Лекция 10

Сверхкритическая флюидная экстракция -----	37
Хроматографические методы -----	38
Разделение с помощью мембран и электрофореза -----	40
Упаривание и дистилляция-----	41

Тема 7. Методы определения органических суперэкоотоксикантов ----- 42

Часть 1

Лекция 11

Газовая хроматография. Хромато-масс-спектрометрия -----	43
---	----

Часть 2

Лекция 12

Высокоэффективная жидкостная хроматография -----	44
--	----

Часть 3

Лекция 13

Методы оптической спектроскопии.Люминесценция.Вольтампериметрия. -	44
--	----

Часть 4**Лекция 14**

Использование ферментативных и иммунохимических реакций -----	46
Ферментативные методы -----	46
Иммунохимические методы -----	47
Занятие 15 Обобщение материала. -----	48
Занятие 16 Консультации-----	48
Занятие 17 Зачёт-----	48
Рекомендуемая литература (основная) -----	49
Рекомендуемая литература (дополнительная) -----	49
Список принятых сокращений -----	50
Содержание -----	51