

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
ЛИМНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

на правах рукописи

АЗАРОВА ИРИНА НИКОЛАЕВНА

**ВЭЖХ метод определения ди(2-этилгексил)фталата
для изучения его поведения в экосистеме озера Байкал**

Специальность 05.11.11. – хроматография и хроматографические приборы

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук
Г.И.Барам

Иркутск 2003

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
1. ВВЕДЕНИЕ.....	5
2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
2.1. Введение.....	9
2.2. Проблемы аналитической химии окружающей среды.....	10
2.3. Современное состояние ВЭЖХ.....	13
2.4. Типичные задачи, решаемые с помощью химического анализа при исследовании окружающей среды.....	19
2.5. Типичные вещества, определяемые в окружающей среде методом ВЭЖХ	
2.5.1. Ионы.....	21
2.5.2. Гуминовые и фульвокислоты.....	26
2.5.3. Полициклические ароматические углеводороды.....	28
2.5.4. Фенолы.....	30
2.5.5. Пестициды.....	33
2.5.6. Взрывчатые нитросоединения.....	35
2.5.7. Диэфиры <i>орто</i> -фталевой кислоты.....	36
2.5.8. Полихлорированные бифенилы.....	37
2.5.9. Синтетические поверхностно-активные вещества.....	38
2.5.10. Другие синтетические органические соединения.....	39
2.5.11. Органические соединения тяжелых металлов.....	39
2.5.12. Хлорофиллы и другие фитопигменты.....	40
2.5.13. Жиры и жирные кислоты.....	41
2.5.14. Природные вещества в донных осадках.....	42
2.5.15. Токсины цианобактерий (синезеленых водорослей).....	43
2.5.16. Газы.....	44
2.6. Заключение.....	46

3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3.1. Оборудование.....	47
3.2. Материалы	
3.2.1. Хроматографические материалы.....	47
3.2.2. Химические материалы.....	47
3.3. Методы	
3.3.1. Очистка растворителей.....	48
3.3.2. Подготовка посуды и оборудования для определения фталатов.....	48
3.3.3. Твердофазная экстракция ПАУ и фталатов.....	48
3.3.4. Отбор проб воды для определения ДЭГФ.....	49
3.3.5. Проверка обращенно-фазовых сорбентов на "коллапс" в водных подвижных фазах.....	50
3.3.6. Методика определения ДЭГФ в воде.....	50
3.3.7. Определение ДЭГФ в пробах снега, льда и дождевой воды.....	51
3.3.8. Моделирование сорбции ДЭГФ на взвешенных частицах....	52
3.3.9. Определение ДЭГФ в почве и донных отложениях.....	52
3.3.10. Определение ДЭГФ во взвеси в речной воде.....	53
3.3.11. Исследование кинетики щелочного гидролиза ДЭГФ.....	53
3.3.12. Определение суммы фталатов в жире нерпы и омуля.....	53
3.3.13. Определение ДЭГФ в лабораторном оборудовании и материалах.....	54
3.3.14. Изучение биодegradации ДЭГФ.....	55

4. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. Постановка задачи	
4.1.1. Введение.....	57
4.1.2. Экосистема озера Байкал как объект исследования.....	58
4.1.3. Выбор вещества-трассера для изучения его поведения в экосистеме озера Байкал.....	59
4.1.4. Эфиры <i>орто</i> -фталевой кислоты как загрязнители окружающей среды.....	62

4.1.5. О плане изучения поведения ДЭГФ в экосистеме оз. Байкал.....	64
4.2. Определение ДЭГФ в воде	
4.2.1. Методические проблемы определения ДЭГФ на уровне фоновых концентраций.....	66
4.2.2. Концентрирование ДЭГФ методом ТФЭ и непосредственно на аналитической колонке.....	70
4.2.3. Определение ДЭГФ в байкальской воде.....	76
4.2.4. Определение ДЭГФ в притоках озера Байкал и в р. Ангара.....	84
4.3. Определение ДЭГФ в снеге, во льду, в дождевой воде.....	87
4.4. Определение ДЭГФ в почве.....	89
4.5. Определение ДЭГФ в донных осадках озера Байкал.....	91
4.6. Изучение сорбции ДЭГФ на взвешенных частицах.....	93
4.7. Изучение биодegradации ДЭГФ микроорганизмами.....	95
4.8. Биоаккумуляция ДЭГФ в жире омуля и нерпы.....	97
5. ВЫВОДЫ.....	101
6. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	102
7. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	104

1. ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Одним из важнейших направлений экологических исследований является осуществление химического мониторинга, который дает представление не только о состоянии отдельного объекта окружающей среды или экосистемы в целом, но и позволяет изучать механизмы функционирования экосистемы. Без химического мониторинга невозможно прогнозирование путей развития экосистемы и планирование природоохранных мероприятий.

При проектировании системы химического мониторинга необходимо учитывать множество факторов, которые определяются особенностями природного объекта, а также самими поставленными целями и задачами. С точки зрения аналитической химии важнейшими этапами проектирования являются следующие: выбор вещества-аналита, наблюдение за которым должно дать необходимую для решения поставленной задачи информацию; выбор объектов, в которых предстоит анализировать вещество-аналит; определение месторасположения станций отбора проб и составление графика пробоотбора; выбор химико-аналитического метода анализа с учетом объема планируемой работы. Очевидно, что создание системы мониторинга для больших экосистем (например, озеро Байкал вместе с его водосборным бассейном) требует весьма значительных затрат, снизить которые можно, в первую очередь, путем оптимизации всех звеньев системы.

Один из самых эффективных способов оптимизации системы химического мониторинга – осуществление анализов непосредственно на местах отбора проб. Это позволяет не только отказаться от транспортировки образцов в стационарные лаборатории, но и оперативно менять план и объем исследований, исходя из полученных результатов. Для определения веществ-аналитов в объектах водных экосистем перспективным методом анализа образцов в условиях полевой лаборатории является микроколочная ВЭЖХ, которая не требует для работы больших объемов органических растворителей, а также применения сложных процедур подготовки проб, характерных для метода газовой хроматографии.

Решение всех вышеперечисленных проблем, связанных с созданием систем химического мониторинга объектов окружающей среды, нам представляется, безусловно, актуальным.

Цель и задачи исследования.

1. Усовершенствовать систему химического мониторинга экосистемы озера Байкал, добавив к списку анализируемых соединений вещество, концентрация которого в различных объектах экосистемы определялась бы, главным образом, глобальными процессами.

2. Обосновать целесообразность выбора ди(2-этилгексил) фталата (ДЭГФ) в качестве вещества-аналита, представляющего интерес для изучения его поведения в экосистеме озера Байкал.

3. Разработать и апробировать методику определения ДЭГФ в байкальской воде с помощью ВЭЖХ, позволяющую осуществлять анализы в условиях полевой лаборатории.

4. Разработать и апробировать ВЭЖХ методики определения ДЭГФ в различных объектах экосистемы озера Байкал – в воде притоков Байкала и в р. Ангаре, в снегу, во льду, в почве и донных отложениях – для оценки уровня содержания ДЭГФ.

5. Разработать и апробировать ВЭЖХ методики определения ДЭГФ в культуральных жидкостях микроорганизмов и в жировых тканях рыб и байкальской нерпы для оценки скорости биодegradации ДЭГФ и степени его биоаккумуляции.

Научная новизна представленной работы заключается в следующем:

1. Сделан обоснованный выбор ДЭГФ в качестве химического трассера для изучения типичных процессов, протекающих в экосистеме озера Байкал.

2. Разработан и апробирован в условиях полевой лаборатории метод ВЭЖХ анализа ДЭГФ в воде с прямым концентрированием пробы на аналитической колонке с обращенной фазой. Предел обнаружения метода составил 0.02 мкг/л, что позволяет его использовать для определения ДЭГФ в

природных водах фоновых районов мира.

3. Разработаны ВЭЖХ методики для определения ДЭГФ в донных отложениях, в почве, в культуральных жидкостях микроорганизмов и методика определения суммарного содержания фталатов в жировых тканях рыбы и тюленя.

4. Сделана оценка уровней содержания ДЭГФ в водных объектах экосистемы озера Байкал: в поверхностной и глубинной воде озера, в водах основных притоков Южного Байкала и р. Ангара. Показано, что за последние 6 лет концентрация ДЭГФ в байкальской воде снизилась более, чем в 4 раза.

5. Получены данные об уровне концентраций ДЭГФ в ледовом покрове озера, снежном покрове в направлении от Иркутска к Байкалу, в донных осадках и почве, данные о суммарном содержании фталатов в жировой ткани нерпы и омуля.

Практическая значимость работы.

Разработан высокочувствительный метод ВЭЖХ-определения ДЭГФ в природных водах (предел обнаружения 0.02 мкг/л), пригодный для применения в условиях полевой лаборатории и позволяющий осуществлять мониторинг ДЭГФ. Данные мониторинга могут представлять интерес для изучения процессов атмосферного переноса и перемешивания природных вод.

Получены данные о содержании экотоксиканта ДЭГФ в различных объектах уникальной экосистемы озера Байкал, позволяющие оценить уровень ее загрязнения по сравнению с другими районами мира.

Методики, разработанные для определения ДЭГФ в различных объектах экосистемы озера Байкал, могут быть применены в исследованиях других экосистем.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Обоснование целесообразности выбора ДЭГФ в качестве химического трассера для изучения типичных процессов, протекающих в экосистеме озера Байкал.

2. Метод ВЭЖХ анализа ДЭГФ в воде с прямым концентрированием проб на колонке с обращенно-фазовым сорбентом с пределом обнаружения ДЭГФ 0.02 мкг/л, пригодный для проведения анализов в условиях полевой лаборатории.

3. ВЭЖХ методики определения ДЭГФ в донных отложениях, в почве, в культуральных жидкостях микроорганизмов и методика определения суммарного содержания фталатов в жировых тканях рыбы и тюленя.

4. Данные об уровнях содержания ДЭГФ в водных объектах экосистемы озера Байкал: в поверхностной и глубинной воде озера, в водах основных притоков Южного Байкала и р. Ангара.

5. Данные об уровне концентраций ДЭГФ в ледовом покрове озера, снежном покрове в направлении от Иркутска к Байкалу, в донных осадках и почве; данные о суммарном содержании фталатов в жировой ткани нерпы и омуля.

Апробация работы.

Основные результаты исследований были доложены на: Всероссийском симпозиуме по теории и практике хроматографии и электрофореза (Москва. 13-17 апреля 1998 г.); Всероссийском симпозиуме по химии поверхности, адсорбции и хроматографии (Москва. 12-16 апреля 1999 г.); VI Конференции "Аналитика Сибири и Дальнего Востока" (Новосибирск. 21-24 ноября 2000 г.); 3-ем Международном симпозиуме по методам разделения в биологических науках (Москва. 13-18 мая 2003 г.).

Структура и объем работы.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов и списка литературы. Материал диссертации изложен на 117 страницах текста, содержит 21 рисунок и 9 таблиц. В списке цитируемой литературы 190 наименований.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 01-05-97241).

2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

ВЭЖХ В АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ.

2.1. Введение.

Аналитическая химия окружающей среды как отдельная дисциплина сформировалась менее 50 лет назад. Интересно, что ее появление и развитие было обусловлено не стремлением человека получить нечто новое, а боязнью потерять уже имеющееся [Бокрис, 1982; Корте, 1997; Schwarzenbach et al., 1993]. Эта история весьма показательна и в кратком изложении выглядит следующим образом.

В конце 60-х годов XX века человечество впервые обратило серьезное внимание на оборотную сторону бурного технического прогресса, вызванного взрывным развитием химической промышленности, электроэнергетики (в том числе и ядерной), металлургии, сельского хозяйства, транспорта, добычей полезных ископаемых. Оно столкнулось с загрязнением окружающей среды продуктами деятельности человека, которое, приобретая все более явный характер, грозило стать неуправляемым и необратимым. Это послужило вынужденным стимулом появления целого комплекса новых наук и дисциплин, нацеленного на охрану и изучение окружающей среды. Этот комплекс получил название "экология" (от греч. *экос* – дом, *логос* – наука), и сейчас экологию изучают уже в младших классах школы.

Значение экологии для современного общества трудно переоценить. Кроме решения своих собственных научных и прикладных задач, она прямо и косвенно влияет на политическое устройство многих стран ("зеленые" движения и партии), стимулирует развитие ресурсосберегающих технологий и появление новых производств, наук и дисциплин. Количество научных публикаций в области экологии намного превосходит количество публикаций в области других наук. Экология наряду с политикой и экономикой стала предметом межгосударственных отношений.

Велико влияние экологии и на развитие аналитической химии. Загрязнение окружающей среды химическими веществами, многие из которых представляют реальную опасность для всего живого, заставило развитые страны

вкладывать значительные средства в сферу охраны природы. С появлением природоохранного законодательства, которое ужесточается с каждым годом и стало разделом международного права, аналитическая химия окружающей среды фактически сформировалась в самостоятельную науку. В отличие от "классической" аналитической химии, она имеет дело с очень сложными и многокомпонентными объектами исследования (природные воды, почва, донные осадки, атмосфера, растительные и животные ткани), в которых вещества-аналиты присутствуют иногда в предельно низких концентрациях. Такая специфика послужила толчком к интенсивному развитию уже известных и к появлению новых методов химического анализа, что стало возможным благодаря значительному финансированию со стороны "химически грязной" промышленности. Она заинтересована в правильности результатов анализов промышленных выбросов, на основании которых государство налагает существенные штрафы за загрязнение окружающей среды. Это, в свою очередь, привело к появлению мощной и доходной отрасли промышленности, производящей все необходимое для аналитической химии окружающей среды. Не осталось в стороне высшее и специальное химическое образование. Химик-аналитик в развитых странах – одна из самых востребованных профессий.

Если первоначально аналитическая химия окружающей среды служила, главным образом, прикладной цели – охране природы, то сейчас она активно применяется и в фундаментальных исследованиях, направленных на изучение химических превращений веществ как природного, так и антропогенного происхождения, – в исследованиях, необходимых для понимания природных процессов и их прогнозирования.

2.2. Проблемы аналитической химии окружающей среды.

Как и в любой другой науке, в экологической аналитической химии есть "внешние" и "внутренние" проблемы.

"Внешние" проблемы – проблемы, которые ставят перед аналитиками "пользователи" аналитической информации: контролирующие организации, юристы, экологи, врачи, специалисты сельского хозяйства и др. Они связаны с

появлением новых веществ-аналитов и объектов исследования, анализ которых требует разработки соответствующих методик, с необходимостью доказательства "правильности" результатов, с выявлением причин тех или иных нарушений, заболеваний и т.д.

"Внутренние" проблемы связаны с необходимостью совершенствования методов анализа в сторону повышения их чувствительности, точности, достоверности, экономичности. По мере решения этих проблем в аналитической химии окружающей среды к настоящему времени сформировалась вполне определенная иерархия методов анализа, начиная с простейших "оценочных" и кончая сложными и дорогостоящими. Применимость каждого конкретного метода определяется поставленной задачей и экономическими соображениями. Разрабатываются оптимальные алгоритмы решения сложных аналитических задач, включая изучение превращения интересующих веществ или целых групп таких веществ в отдельных экосистемах или даже в глобальном масштабе, создаются многочисленные и разнообразные системы химического мониторинга разного уровня.

Одной из важнейших проблем экологической аналитической химии является выбор оптимальных методов анализа. Очевидно, что такой выбор определяется, с одной стороны, самой аналитической задачей, а с другой – возможностями конкретной лаборатории: экономическими, приборными, профессиональными и пр. В данном случае мы говорим о лабораториях, которые имеют возможность выбирать метод анализа по своему усмотрению. Такого права практически нет у "официальных" (аккредитованных) химико-аналитических лабораторий, выполняющих анализы по аттестованным методикам.

Выбор оптимального метода анализа зависит от множества факторов и вряд ли может быть строго формализован. Однако для исследовательских аналитических лабораторий некоторые подходы мы сформулировать попытаемся.

Рассуждая с позиции "крайних" точек зрения, важно выбрать принцип химического анализа – "для каждого вещества свой метод анализа" или "для всех

веществ один метод анализа".

Очевидно, что первый вариант полностью подходит для тех случаев, когда речь идет об определении концентрации одного вещества в непрерывном или псевдонепрерывном режиме в течение продолжительного времени. Здесь наиболее рационально использовать высокоселективные методы, которые не требуют процедуры отделения вещества от других компонентов матрицы, даже если для этого необходимы специальная аппаратура или наборы специальных реагентов. К таким высокоселективным методам относятся анализ с применением селективных сенсоров и мембран, титриметрические методы и физико-химические методы с использованием селективных реагентов (проточно-инжекционный анализ, иммуноферментный анализ) и пр. Лаборатория, работающая по принципу "для каждого вещества свой метод анализа", обеспечивает высокую производительность, но по отношению к относительно малому набору веществ. Чаще всего такие лаборатории создаются для осуществления химического мониторинга.

Второй вариант – "для всех веществ один метод" – целесообразно применять для многокомпонентного анализа или для одиночных или малосерийных определений того или иного вещества из списка, т.е. при решении задач, характерных для "универсальных" (экспертных) аналитических лабораторий. "Универсальный" химический анализ предусматривает отделение всех веществ-аналитов от мешающих компонентов с последующим определением их концентраций с помощью подходящего физико-химического метода. В современной аналитической химии наибольшими возможностями в этом плане обладают капиллярная газовая хроматография (ГХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и капиллярный электрофорез (КЭ).

Если говорить об "универсальности", то здесь первенство принадлежит методу ВЭЖХ, который в той или иной мере можно использовать для определения практически всех веществ. ГХ нельзя применять для анализа высокомолекулярных, нелетучих и термолабильных веществ, а КЭ – для определения электронейтральных соединений (вариант мицеллярного КЭ по

разным причинам до широкого практического применения пока не доведен).

Однако, несмотря на высокие потенциальные возможности, ВЭЖХ в аналитической химии окружающей среды по сравнению с ГХ применяется весьма редко [Другов, 2000; Lawrence, 1984]. Это объясняется, по нашему мнению, тремя главными причинами.

1. Основное предназначение аналитической экологической химии – контроль состояния окружающей среды с целью предотвращения ее загрязнения. Эта функция весьма консервативна, т.к. природоохранное законодательство с его юридическими требованиями и нормами допускает внедрение новых методов только после долгого этапа апробации. Предпочтение отдается, очевидно, старым, метрологически хорошо обоснованным и стандартизованным методам, к которым относится и ГХ. ВЭЖХ, как исторически более "молодому" методу, трудно конкурировать с ГХ.
2. Главное внимание экологов обращено на атмосферные пути загрязнения окружающей среды, т.е. загрязнение ее летучими соединениями. Список таких загрязнителей быстро увеличивается, и образцы часто содержат много десятков аналитов, которые надо не только разделить, но и безошибочно идентифицировать. Здесь наиболее мощным аналитическим методом, без сомнения, является тандем "капиллярная ГХ/масс-спектрометрия".
3. Многие исследования в химии часто инициируются не их целесообразностью, а возможностью уже хорошо освоенных методов и "менталитетом" самих исследователей. Как более "старый" и известный, метод ГХ неохотно уступает свои позиции ВЭЖХ даже там, где преимущества ВЭЖХ очевидны.

Главная цель настоящего обзора – в сжатой форме познакомить читателя с последними достижениями ВЭЖХ в области химического анализа объектов окружающей среды, которые, как нам кажется, должны способствовать более широкому внедрению ВЭЖХ в аналитическую экологическую химию.

2.3. Современное состояние ВЭЖХ.

История жидкостной хроматографии начинается с 1903 г., и общепризнанным первооткрывателем этого метода химического анализа

является М.С.Цвет [Сенченкова, 1997; Цвет, 1903]. Современная колоночная жидкостная хроматография – ВЭЖХ – значительно моложе. Ей нет еще и 35 лет, но, благодаря своим широчайшим возможностям, она быстро заняла прочные позиции в различных разделах науки и практики. ВЭЖХ нельзя назвать "монометодом", т.к. она существует в виде большого числа вариантов как по механизму разделения веществ (адсорбция, распределение, эксклюзия), так и по аппаратному оформлению. Эти варианты определяются множеством факторов, начиная с постановки самой аналитической задачи, но, тем не менее, современная практическая ВЭЖХ как метод химического анализа может быть обобщенно охарактеризована следующим образом:

- количество веществ, одновременно определяемых в одной пробе, достигает 20-30, и оно ограничено эффективностью хроматографической колонки, которая на практике не превышает 20000 теоретических тарелок;
- типичная производительность анализа, выполняемого методом ВЭЖХ, составляет 1 вещество в минуту;
- типичная хроматографическая аналитическая колонка имеет диаметр 2-4 мм, длину 100-250 мм, заполнена жестким сорбентом с диаметром частиц 3-10 мкм;
- оптимальная линейная скорость потока элюента составляет около 1 мм/с, и для преодоления гидродинамического сопротивления колонки необходимо входное давление 5-15 МПа;
- наиболее широко распространенным вариантом ВЭЖХ является разделение на привитых алкильных обращенных фазах, синтезированных на основе силикагеля;
- наиболее широко применяемым методом детектирования в ВЭЖХ является фотометрия в УФ области спектра;
- типичный предел обнаружения веществ в ВЭЖХ составляет 1-10 нг в инжестируемом образце;
- типичная погрешность определения концентрации аналита в пробе методом ВЭЖХ составляет 2-5%.

Все вышеперечисленное справедливо в той или иной степени и для

ВЭЖХ, применяемой для анализа объектов окружающей среды. Разумеется, наше схематичное описание современного состояния ВЭЖХ носит весьма условный характер, но здесь мы говорим лишь об общих характеристиках метода, основанных на статистике. Более конкретно на тех или иных вариантах ВЭЖХ мы остановимся в следующих разделах настоящего обзора, посвященных определению в окружающей среде конкретных веществ и их групп.

Если говорить о постановке аналитических задач, решаемых методом ВЭЖХ, то их можно разделить на два типа.

1. Определение одного или нескольких веществ на хроматографе, предварительно откалиброванном непосредственно перед выполнением анализа по контрольным (стандартным) соединениям.
2. Определение одного или нескольких веществ из большой группы соединений, любое из которых может присутствовать в пробе, используя для идентификации веществ информацию, собранную и систематизированную в заранее сформированную базу данных.

Задачи первого типа являются классическими и в комментариях не нуждаются. Что касается задач второго типа, то возможность их решения открывает перед аналитической химией, и особенно перед экологической аналитической химией (в силу ее специфики), совершенно новые перспективы.

Задачи второго типа довольно успешно решаются методом ГХ-МС, когда идентификация веществ на хроматограмме осуществляется одновременно по времени их удерживания и по масс-спектрам. Идентификация соединения только по времени его удерживания ограничена пиковой емкостью хроматографической колонки, которая в ГХ редко превышает 500. Возможность идентификации соединения только по его масс-спектру практически не имеет ограничений и определяется лишь количеством и детализированностью эталонных масс-спектров индивидуальных веществ, внесенных в базу данных. Современные базы содержат сотни тысяч масс-спектров индивидуальных веществ, но для идентификации соединений в смесях без их разделения на отдельные компоненты они использованы быть не могут. В тандеме ГХ-МС функцию разделения выполняет хроматограф. В сочетании с масс-

спектрометрическим детектором весь комплекс является мощнейшим аналитическим инструментом.

Успехи ВЭЖХ в решении задач второго типа (скриннинговые задачи) пока значительно скромнее. С одной стороны, это связано с относительно невысокой пиковой емкостью хроматографических колонок, не превышающей на практике 100-200, а с другой – с отсутствием детектора, равного по информационной мощности масс-спектрометру. Хотя первые системы ЖХ-МС появились почти 20 лет назад [Barcelo, 1995; Grob, 1991; Yergey et al., 1990], в практике рутинного анализа они начали активно применяться лишь в последние 3-5 лет [Niessen, 1998; Niessen, 1999]. Цена этих аналитических комплексов весьма велика, и они требуют высокой квалификации обслуживающего персонала.

Нам известны лишь отдельные примеры, когда ВЭЖХ применяется в скриннинговых исследованиях окружающей среды [Barcelo, 1995; Bobeldijk et al., 2001]. Однако в области судебной аналитической химии, которая устанавливает, какое токсичное вещество из длинного списка подобных соединений, послужило причиной смерти человека, таких работ довольно много. В течение последнего десятилетия нескольким группам исследователей удалось на основе серийных высокоэффективных жидкостных хроматографов со спектрофотометрическими и масс-спектрометрическими детекторами создать анализаторы наркотических, ядовитых и сильнодействующих веществ, список которых (база данных) составляет несколько сот названий [Косман и др., 1997; Elliott et al., 1998; Gaillard et al., 1997; Jinno et al., 1990; Koves, 1995; Maier et al., 1995;]. Принцип их работы мало чем отличается от принципа работы тандема ГХ-МС: вещества пробы разделяются с помощью градиентной обращенно-фазовой ВЭЖХ и идентифицируются предварительно по времени удерживания, а окончательно – по электронному спектру поглощения или по масс-спектру.

Очевидно, что использование подобных анализаторов в рутинной аналитической химии окружающей среды позволило бы не только во много раз увеличить объем получаемой информации, но и решать намного более сложные задачи.

Одной из тенденций развития ВЭЖХ является уменьшение масштаба хроматографической процедуры за счет миниатюризации колонки. Преимущества микроколоночной и капиллярной ВЭЖХ перед обычной ("стандартной") достаточно хорошо известны [Исии, 1991; Varam et al., 1983; Kusera, 1984; Scott, 1984,], и в последние десять лет появилось несколько коммерчески доступных моделей "микрохроматографов", которые предназначены, главным образом, для работы с масс-спектрометрическими детекторами. Среди них "MicroLC" ("Waters", США), "Ultra-Plus MicroLC System" ("Anachem", Inc., США), "MicroLC System" ("LC Packing", Ltd., Великобритания).

Важнейшее преимущество микро-ВЭЖХ перед "стандартной" – существенное (в десятки раз) снижение расхода подвижной фазы на один анализ – с 20-50 до 1-5 мл. Для аналитической химии окружающей среды это обстоятельство представляет особый интерес, так как открывает реальные возможности для выполнения массовых анализов непосредственно на месте отбора образцов, т.е. в условиях полевой лаборатории, где работа с десятками литров опасных растворителей, как правило, недопустима [Барам, Азарова и др., 2000; Varam, 1996]. Возможность выполнения анализов *in situ* стратегически меняет подход к самому исследованию. Информация, получаемая на месте, позволяет оперативно корректировать план работы и быстро принимать решения в тех случаях, когда речь идет об опасном загрязнении исследуемого района. Кроме того, снижаются расходы на консервирование и транспортировку образцов – их число достигает порой десятков и сотен – в стационарную лабораторию, а также исключаются ошибки, связанные с возможным изменением состава образцов во времени.

Несмотря на очевидную потребность в полевых жидкостных хроматографах, их пока очень мало. Среди имеющихся отметим "MiniChrom" (IMR GmbH, Германия), "Минихром" (ЗАО "Аналитек", Москва), "Цвет-401", "Цвет-403" и "Цвет-404" (ОАО "Цвет", Дзержинск, Нижегородская область).

Кроме специализированных хроматографов в полевой лаборатории могут успешно использоваться коммерчески доступные портативные

(малогабаритные) моноблочные хроматографы с малым расходом элюентов, например, хроматографы "Милихром 1-5" (ОАО "Научприбор", г. Орел), "Милихром А-02" (ЗАО "ЭкоНова", г. Новосибирск), ряд моделей ионных хроматографов фирм "Dionex" (США) и "Metrohm" (Швейцария).

При отсутствии оборудования проблему полевого анализа объектов окружающей среды методом ВЭЖХ все-таки решают, устанавливая "стандартные" жидкостные хроматографы в специальных передвижных лабораториях-трейлерах или в бортовых лабораториях крупных научно-исследовательских судов. Такие лаборатории создаются рядом фирм (например, американскими "Agilent Technologies", Inc. и "Maxxam Analytics", Inc.) по специальным проектам и стоят они очень дорого.

И, наконец, в завершение этой главы коротко остановимся на такой важной проблеме хроматографического анализа, как процедура подготовки образца. Она всегда преследует одновременно несколько целей:

- удаление из образца компонентов, мешающих идентификации пиков веществ-аналитов на хроматограмме;
- удаление из образца нерастворимых частиц, включая микроорганизмы, а также компонентов, "необратимо" загрязняющих аналитическую колонку и уменьшающих, тем самым, срок ее эксплуатации;
- перевод вещества-аналита в растворимую форму;
- концентрирование раствора вещества-аналита до уровня концентрации, позволяющей его регистрировать в инжектируемом в колонку ограниченном объеме пробы [LeBlanc, 2001].

В области аналитической химии окружающей среды процедуру подготовки образца к анализу методом ВЭЖХ формализовать крайне трудно по вполне понятным причинам: она определяется не только тем, какое вещество (вещества) необходимо определить, но и какой объект при этом выбирается для исследования. Такими объектами могут быть "чистые" атмосферные осадки и "грязные" дымовые газы, "чистые" поверхностные воды и "грязные" сточные воды предприятий, "чистые" озерные и морские донные отложения и "грязные" донные отложения очистных сооружений, "чистые" почвы и "грязные" грунты

из мест захоронений отходов. А если учесть, что даже "чистые" природные объекты всегда заметно отличаются друг от друга, то становится ясно, что в аналитической химии окружающей среды подготовка образца к хроматографическому анализу является важнейшей, если не определяющей, стадией всего анализа.

Понимая сложность задачи подготовки образца, трудно отдать предпочтение какому-либо одному методу. Несмотря на очевидный прогресс, наблюдаемый в этой области в последнее десятилетие благодаря развитию твердофазной экстракции и ее микроварианта [Alpendurada, 2000; Ferrer et al., 1999; Rossi et al., 2000;], до сих пор остаются актуальными традиционные методы: жидкостная экстракция, адсорбция, осаждение, дистилляция, химическая обработка образца и химическая дериватизация веществ-аналитов [LeBlanc, 2001; Majors, 2002]. Когда же речь идет о комплексном исследовании образца, предусматривающем одновременное определение в нем многих разнородных веществ, то процедура подготовки такого образца требует разработки специальной и, порой, весьма сложной стратегии [Barcelo, 2000; Cortazar et al., 2002; Farre et al., 2002; Valcarcel et al., 1999].

2.4. Типичные задачи, решаемые с помощью химического анализа при исследовании окружающей среды.

Существующее в науке "разделение труда" формально освобождает химика-аналитика от постановки самой "экологической" задачи, хотя для ее решения режиссер-эколог может поручить ему даже главную роль. Тем не менее, практика показывает, что если химик не принимает самого непосредственного участия при обсуждении экологической задачи, когда вырабатываются стратегические и тактические подходы к ее решению, то вероятность успеха весьма мала. Экологическую химию нельзя рассматривать как узкую дисциплину. По сути, она – целый институт, объединяющий в себе много наук, среди которых нет разделения на главные и второстепенные.

Постановке любой эколого-химической проблемы предшествует выбор вещества, судьбу которого в окружающей среде предстоит исследовать, и здесь

необходимо правильное понимание происхождения этого вещества. Классификация всех веществ в экосистеме "Земля" по их происхождению полезна не только с философской точки зрения, но и с научно-методологической. Существует немало самостоятельных задач, целью которых является именно поиск ответа на вопрос "Каково происхождение вещества-аналита?":

- земного или космического;
- природного или антропогенного;
- "живого" или "неживого".

Очевидно, что если вещество может иметь много источников эмиссии, то для правильной экологической интерпретации результатов химического анализа это обстоятельство всегда надо учитывать.

Если для химика-аналитика происхождение вещества имеет лишь "профессиональный" интерес, то для потребителей "химико-аналитической" информации – экологов, геологов, биологов и т.д. – знания о происхождении вещества-аналита необходимы для решения их собственных "специфических" проблем.

Второй важный вопрос: "Какими путями вещество-аналит попало (могло попасть) в исследуемый образец?". Химик-аналитик на этот вопрос ответить не может. Он должен лишь представить убедительные доказательства того, что вещество в образце определено правильно, а не попало в него в результате методической ошибки.

После того, как вещество-аналит обоснованно выбрано, можно формулировать и саму экологическую задачу. Таких задач великое множество, и мы, не ставя своей целью обсуждать их содержание даже поверхностно, ограничимся лишь перечислением наиболее характерных, в решении которых аналитическая химия может принести наибольшую пользу.

1. Определение уровня загрязнения выбранного объекта окружающей среды веществом-аналитом.
2. Пути и продукты превращения вещества-аналита в окружающей среде.
3. Исследование механизмов перемещения воздушных и водных масс по

профилям концентраций вещества-аналита, выступающего в роли химического трассера.

4. Исследование пищевых цепей в экосистемах.

5. Установление характера климата в прошлом по пространственному распределению вещества в донных отложениях, в материковых льдах, в древесине и пр.

Выбор веществ-аналитов для решения таких задач во многом определяется возможностями применяемого метода анализа. Далее мы рассмотрим основные типичные классы веществ, встречающихся в окружающей среде, которые являются характерными аналитами для ВЭЖХ.

2.5. Типичные вещества, определяемые в окружающей среде методом ВЭЖХ.

2.5.1. Ионы.

Анионы неорганических кислот, катионы щелочных, щелочноземельных и тяжелых металлов являются наиболее часто исследуемыми компонентами окружающей среды. Мы объединили их в один раздел, поскольку все они принципиально могут определяться методом ионной и ионообменной хроматографии.

На практике ЖХ чаще используется для определения анионов. С одной стороны, это связано с важной ролью этих веществ в природе, а с другой – очевидными преимуществами ВЭЖХ перед традиционными методами анализа анионов. Любой "классический" метод позволяет определять лишь один тип анионов, а ЖХ – несколько анионов одновременно.

Наибольшее распространение для анализа анионов получила ионная хроматография [Шпигун и др., 1990; Gjerde et al., 1987; Tarter, 1987], которая реализуется с помощью специализированных хроматографов с кондуктометрическим детектором. В этом методе разделение анионов осуществляется на колонке с анионитом с малой емкостью, а элюентом является разбавленный водный раствор, содержащий ионы карбоната/бикарбоната или гидроксила. После разделительной колонки устанавливается подавительная

колонка с катионитом в H^+ -форме, на которой происходит нейтрализация элюента, что необходимо для снижения фоновой электропроводности.

Эффективность разделительной колонки позволяет разделять до нескольких десятков анионов за 15-30 мин. Типичный предел определения составляет около 1 ppb. Главными производителями ионных хроматографов являются фирмы "Dionex" (США) и "Metrohm" (Швейцария). В России ионные хроматографы производят НПКФ "Аквилон" (Москва) и ОАО "Цвет" (Дзержинск, Нижегородская область).

Меньшее распространение получили одноколоночные ионные хроматографы (например, модель "6200" фирмы "Tecator" (Швеция) или системы "ILC-1" и "ILC-2" фирмы "Waters" (США)), в которых кондуктометрический детектор устанавливается сразу за разделительной колонкой. В этом случае фоновая электропроводность элюата исключается не подавительной колонкой, а компенсируется с помощью электронного устройства. Такие хроматографы обладают заметно меньшей чувствительностью, но они проще двухколоночных.

Анионы можно детектировать также с помощью УФ-фотометров. В тех случаях, когда анионы поглощают в УФ-области спектра (нитрат, нитрит, иодид, бромид и др.), возможно их прямое детектирование [Верещагин и др., 2000; Schroeder, 1997]. Если детектирование осуществлять при длинах волн 200-205 нм, то можно достичь предела обнаружения этих анионов около 0.05 ppb. Особенно важно то, что определение поглощающих УФ анионов возможно на фоне высоких концентраций "главных" анионов (SO_4^{2-} и Cl^-), не поглощающих УФ. Обычная ионная хроматография с такой задачей часто справиться не может, т.к. хроматографические пики макро- и микрокомпонентов перекрываются.

Другой способ определения очень низких концентраций анионов в воде на фоне "макрокомпонентов" предложен в работе [Braungart et al., 1984]. Для определения анионов соответствующих кислот Si (IV), Ge (IV), As (V) и P(V) брали 250 мл природной воды, добавляли раствор молибдата аммония, затем три-*n*-октиламин и экстрагировали образовавшиеся ассоциаты гетеромолибдатов с три-*n*-октиламином хлористым метиленом. Разделение проводили на колонке с

CN-фазой (Nucleosil CN); элюент – $\text{CH}_2\text{Cl}_2/n\text{-ButOH}/\text{tert-But-O-Me}=40:10:15$ – содержал 0.2% три-*n*-октиламина.

Для определения непоглощающих УФ излучение анионов применяется прием косвенного детектирования [Барам и др., 1999; Dreux et al., 1982; Small et al., 1982], когда в элюент вводят поглощающие УФ анионы (фталат, салицилат, их нитропроизводные и др.). На фоне поглощения элюента анионы-аналиты регистрируются на хроматограмме в виде отрицательных пиков. Предел определения анионов этим методом составляет около 10 ppb.

Важным преимуществом одноколоночной ионной хроматографии по сравнению с двухколоночной является то, что она может быть реализована на обычном хроматографическом оборудовании [Lazar et al., 1999]. Кроме того, она позволяет определять бикарбонат- и карбонат-анионы. Это особенно важно при исследовании цикла углерода и изучении биопродукции в природных водах.

Высокая селективность и чувствительность (до 1 ppb) достигается при определении некоторых анионов с низкими значениями окислительно-восстановительных потенциалов методом ион-парной ОФ ВЭЖХ с электрохимическим детектированием (например, [Schwedt et al., 1987]).

Ионная хроматография успешно применяется и для определения анионов большого числа органических кислот, причем во многих случаях замены этому методу практически нет. Однако, в окружающей среде большинство органических кислот (кроме жирных кислот), весьма неустойчивы, т.к. быстро разрушаются микроорганизмами, и поэтому анализируются, судя по числу публикаций, редко. Исключением являются лишь случаи, когда органические кислоты определяются в локальных сточных водах промышленных предприятий. Другими способами анализа анионов органических кислот являются ион-парная ОФ ВЭЖХ или ОФ ВЭЖХ химических производных кислот по карбоксильной группе. Дериватизация проводится непосредственно перед анализом с помощью специальных реагентов, например, с помощью *para*-бромфенацилбромида.

Катионы щелочных и щелочноземельных металлов также определяются методом ионной хроматографии [Шпигун и др., 1990; Gjerde et al., 1987; Tarter,

1987;], однако она применяется не так широко, как в случае анионов. Это связано с большим различием селективностей катионообменников по отношению к одно- и двухзарядным катионам, что делает фактически невозможным их одновременное определение при изократической элюции (градиентная элюция в ионной хроматографии приводит к недопустимо большому дрейфу нулевой линии и практически не применяется). Другими словами, при разделении однозарядных катионов (Li^+ , Na^+ , K^+ , NH_4^+ и др.) двухзарядные катионы (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+}) остаются в аналитической колонке и требуют ее периодической очистки, а при разделении двухзарядных катионов однозарядные на колонке не удерживаются.

Из общих соображений очевидно, что удерживание двухзарядных катионов можно уменьшить введением в элюент веществ кислотного характера, способных образовывать комплексы с катионами и, тем самым, частично компенсировать их заряд. Соответствующие комплексы с однозарядными катионами обладают всегда намного меньшей устойчивостью. Мы не нашли в литературе примеров реализации такого подхода для разделения катионов на типичных для ионной хроматографии неподвижных фазах, но он успешно применен для одновременного разделения одно- и двухзарядных катионов на прокаленном при 1000°C силикагеле [Ohta et al., 2003]. Авторы использовали элюенты сложного состава, содержащие хелатообразующие агенты и краун-эферы. Подобные результаты в присутствии тартрат-аниона и 15-краун-5-эфира получены на алюмо- и цирконил-силикагельных катионитах [Sarzanini, 2002].

Известны работы, в которых описаны способы одновременного определения катионов щелочных и щелочноземельных металлов и анионов [Iskandarani et al., 1985; Jones et al., 1985]. Интересные и необычные результаты получаются при использовании сорбентов, содержащих группы как с положительным, так и с отрицательным зарядом (фазы-цвиттерионы). Для такого варианта ионной хроматографии даже предложено специальное название – электростатическая ионная хроматография [Hu et. al., 1998, 1999]. В зависимости от состава элюента, которым может являться и чистая вода, селективность фаз-цвиттерионов изменяется в очень широких пределах при

сохранении достаточно высокой эффективности. Однако отметим, что, несмотря на внешнюю привлекательность получаемых результатов, в рутинной лабораторной практике эти "экзотические" варианты ВЭЖХ заметного применения пока не находят.

Методом ЖХ можно определять также катионы тяжелых металлов. Здесь применяют как ионную хроматографию [Шпигун и др., 1990; Gjerde et al., 1987; Tarter, 1987], так и ионообменную. Ионообменная хроматография применяется значительно реже ионной из-за отсутствия катионитов, обеспечивающих высокую эффективность колонки и выдерживающих давление, необходимое для "быстрых" разделений при высоких скоростях потока, характерных для ВЭЖХ. Колонки с "жесткими" мелкодисперсными катионитами, синтезированными на основе силикагеля, обладая всеми необходимыми свойствами, имеют малый срок эксплуатации вследствие растворения силикагеля-матрицы в процессе долгого контакта с водной подвижной фазой. Ситуация изменилась только с появлением химически стойких "жестких" сульфированных макропористых катионитов на основе сополимера "полистирол-дивинилбензол". Эффективность колонок с такими катионитами при диаметре зерна 5-6 мкм достигает 20000÷50000 теоретических тарелок на 1 м, и они соответствуют термину "ВЭЖХ-колонка" [Seubert et al., 1997; Shaw et.al, 1999].

В зависимости от типа определяемых ионов выбирают метод детектирования: кондуктометрия, амперометрия, УФ фотометрия. Весьма высокая чувствительность достигается с помощью послеколоночного превращения катионов в комплексные соединения, обладающие высокими коэффициентами молярной экстинкции, с последующей УФ фотометрической детекцией [Seubert et al., 1997].

Катионы тяжелых металлов определяют также в виде комплексов с разнообразными лигандами на прямых и обращенных фазах [Тимербаев и др., 1989; Shaw et.al, 1999]. Когда образующиеся комплексы хорошо экстрагируются из воды органическими растворителями, то, применяя экстракцию как метод подготовки образца, можно достичь очень высокой чувствительности определения ионов тяжелых металлов, обычно присутствующих в природных

водах в следовых количествах.

Сравнение трех методов определения тяжелых металлов в почве – ионная хроматография, вольтамперометрия и эмиссионная атомная спектрометрия – показало, что во многих случаях использование ионной хроматографии предпочтительнее [Gunkel et al., 1999].

Органические катионы, главным образом алкиламмонийные, определяют либо методом ионной хроматографии [Walker, 1988], либо с помощью ион-парной ОФ ВЭЖХ. Второй способ обеспечивает, как правило, более высокую эффективность разделения. При анализе моно- и дизамещенных аминов, которые в нейтральных водных растворах существуют в виде однозарядных катионов, широко применяются разнообразные методы пред- и послеклоночной дериватизации. Их выбор определяется способом разделения – ионообменная или ОФ ЖХ – и типом имеющегося детектора. Классический пример – многочисленные варианты аминокислотного анализа.

2.5.2. Гуминовые и фульвокислоты.

Важнейшими макрокомпонентами объектов окружающей среды (почва, донные осадки, природные воды) являются продукты разложения растительных тканей, к которым относятся гуминовые и фульвокислоты (ГФК). Эти соединения представляют собой водорастворимые гидрофильные трехмерные гетерополимеры, состоящие в основном из ароматических ядер и содержащие фенольные, карбоксильные, карбонильные и ацетогруппы, эфирные связи и др. Их молекулярная масса составляет от нескольких сотен до нескольких тысяч дальтон.

Гуминовые и фульвокислоты встречаются повсеместно. Главными объектами исследования являются, конечно, почвы, донные осадки и природные воды, но их определяют даже в аэрозоле при изучении атмосферных явлений [Krivacsy et al., 2000]. ГФК, с одной стороны, представляют интерес при исследовании процессов деструкции древесины, формирования почв и донных осадков, а с другой – как природные адсорбенты, связывающие ионы металлов и многие органические вещества, в том числе и гидрофобные. Так, в работе [Li et

al., 2001] подробно исследовали артефакты, наблюдаемые при твердофазной экстракции полициклических ароматических углеводородов из природных вод, связанные с ассоциацией ПАУ с гуминовыми кислотами, и предложили ряд методических приемов, обеспечивающих правильность анализа.

Для выделения гуминовых и фульвокислот используется обращенно-фазовая и эксклюзионная хроматография с УФ детектором; последняя позволяет оценить их молекулярные массы.

Интересный подход предложен в работе [Wu et al., 2002], где авторы в качестве селективного адсорбента использовали катионообменник, насыщенный ионами Cu^{2+} , что позволило фракционировать ГФК, не разделяемые другими методами.

В окружающей среде также могут встречаться продукты биодеструкции лигнина, гуминовых и фульвокислот различными микроорганизмами и грибами – замещенные вератролы, являющиеся структурными единицами этих полимеров. В работе [Медведева и др., 1990] приведены условия разделения 11 вератролов методом ОФ ВЭЖХ.

Другие "лигниновые" фенолы – ванилины, сирингилы, циннамилы, *пара*-гидроксифенолы – в значительных количествах находят в донных осадках и используют эту информацию при реконструкции климата далекого прошлого. Хотя в работе [Orem et al., 1997] вышеперечисленные фенолы определяли методом ГХ, очевидно, что ВЭЖХ для этих целей тоже может быть использована.

Несмотря на то, что гуминовые и фульвокислоты являются макрокомпонентами природных вод, почв и донных осадков, работ по определению их методом ВЭЖХ крайне мало, что связано, очевидно, с отсутствием у них регулярной структуры. Хроматографические методы, предназначенные для определения (разделения) структурно-индивидуальных веществ, по отношению к этим анализам имеют мало преимуществ перед другими методами анализа.

2.5.3. Полициклические ароматические углеводороды.

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) – большой класс соединений, насчитывающий сотни веществ – являются классическими аналитами для метода ВЭЖХ.

Изучение поведения ПАУ в окружающей среде – исключительно важная задача. Многие из этих веществ относят к химическим трансформерам биосферы, поскольку они обладают канцерогенными, мутагенными, тератогенными и другими свойствами, опасными для живых организмов. Источниками ПАУ являются предприятия практически всех важнейших отраслей промышленности: теплоэнергетика, транспорт, черная металлургия, производство алюминия и т.д. Значительная эмиссия ПАУ происходит при лесных пожарах, извержениях вулканов, из гидротермальных источников и газонефтяных залежей. Этим обусловлено присутствие соединений данного класса во всех объектах природной среды [Суздорф и др., 1994; Lee et al., 1982].

Агентство по охране окружающей среды США (US EPA) включило в список приоритетных экотоксикантов 16 ПАУ: от нафталина до индено[1,2,3-*cd*]пирена. Среди них наибольшей канцерогенной активностью обладает бенз[*a*]пирен (БаП), он принят в качестве индикатора присутствия ПАУ в окружающей среде. Мониторинг ПАУ в питьевой воде, воздухе, твердых и жидких отходах используется для природоохранных целей. Обширную библиографию (150 ссылок) по современному мониторингу ПАУ в окружающей среде можно найти в обзоре [Vo-Dinh et al., 1998].

Официальным методом определения ПАУ в этих объектах в США является ВЭЖХ. Предпочтение жидкостной хроматографии по отношению к газовой отдается потому, что ВЭЖХ-анализ быстрее; некоторые ПАУ трудно разделяются ГХ; чувствительность ВЭЖХ с флуориметрическим детектором выше по сравнению с ГХ-детекторами; высокая селективность УФ-фотометрического и флуориметрического детектирования снижает требования к предварительной очистке образцов.

Селективность обычных обращенных фаз C_{18} по отношению к ПАУ заметно хуже селективности полимерных октадецильных сорбентов, поэтому

предпочтение отдается последним. Такие "специальные" коммерчески доступные фазы часто имеют в своем названии аббревиатуру "ПАУ" (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons). Для разделения 16-ти ПАУ из списка US EPA достаточная эффективность колонки составляет 5000÷6000 теоретических тарелок [Baram, 1996]. Повышение селективности при анализе "тяжелых" ПАУ может быть достигнуто с помощью "экзотических" ОФ, например, 2-(1-пиренил)этилдиметил-силикагеля (Cosmosil 5-PYE, фирма "Nacalai Tesque", Япония) [Jaouen-Madoulet et al., 2000].

В ОФ ВЭЖХ ПАУ используются элюенты, состоящие из воды, метанола и/или ацетонитрила. Величина рН элюента, как правило, не фиксируется добавлением буфера, поскольку ПАУ не являются ионогенными соединениями.

Детектирование ПАУ в элюате осуществляется с помощью УФ фотометра или УФ флуориметра, причем предпочтение отдается спектральным детекторам, обеспечивающим более надежную идентификацию веществ по их спектрам. Чувствительность определения для флуориметрических детекторов, как правило, в 10÷1000 раз выше, чем фотометрических (исключение из 16 приоритетных ПАУ составляет лишь аценафтилен, который не флуоресцирует). Официальные методы определения всех 16-ти ПАУ по требованиям US EPA предусматривают применение этих двух типов детекторов одновременно, что позволяет сочетать надежность идентификации по УФ спектрам с высокой чувствительностью по флуориметрии. Существуют специализированные хроматографы для анализа ПАУ с двумя детекторами, например, фирмы "Perkin-Elmer" (США) [Perkin-Elmer Cookbook, 1993].

Когда необходимо определять "тяжелые" ПАУ, кроме обращенно-фазовой используется и нормально-фазовая ВЭЖХ. Так, для разделения изомерных ПАУ, содержащих в молекуле 7 бензольных колец, применяли сорбент Nucleosil 100-5 NO₂ (Macherey-Nagel, Германия), элюируя вещества смесью *n*-гексан–бензол [Sauerland et al., 1997]. Определение "тяжелых" ПАУ в экстракте донных отложений в работе [Boloubassi et al., 1991] выполнено на сорбенте Nucleosil 100-5 NH₂ (элюент – гексан).

Интерес представляет определение ПАУ с детектором, роль которого

выполняет протонный ЯМР-спектрометр [Weißhoff et al., 2002], позволяющий в сочетании с ОФ ВЭЖХ идентифицировать "неклассические" ПАУ. Для исключения мешающего влияния воды, элюирование проводили смесью $\text{CH}_3\text{CN}-\text{D}_2\text{O}$. ЯМР-детектор по сравнению с УФ фотометром и флуориметром обладает заметно меньшей чувствительностью, но при достаточно высокой концентрации ПАУ обеспечивает уникальную информативность.

Учитывая низкое содержание ПАУ в природных объектах, большое внимание при их анализе уделяется подготовке (концентрированию) проб. Широко используется классическая жидкостная экстракция органическими растворителями (гексан, хлористый метилен, ацетон) [Сониясси и др., 1994] и под действием ультразвука [Suna et al., 1998]; обычная и микро-твердофазная экстракция на неполярных сорбентах [Li et al., 2001; Liu et al., 1997] и их автоматизированные варианты для обычной [Fladung, 1995] и полевой лаборатории [Kira et al., 1997]; концентрирование "on line" на предколонке [Lai et al., 1995]. Также применяют сверхкритическую экстракцию при извлечении ПАУ из образцов почвы [Hollender et al., 1997; Kipp et al., 1998] и микроволновое излучение при извлечении из древесины [Pensado et al., 2000].

2.5.4. Фенолы.

Фенолы представляют собой обширный класс соединений как биогенного, так и антропогенного происхождения. В окружающей среде определяют, как правило, фенолы антропогенного происхождения, многие из которых обладают заметной токсичностью. Так, например, Агентство по охране окружающей среды США (US EPA) в качестве приоритетных токсикантов нормирует в воде 11 фенолов: фенол; 2-нитрофенол; 4-нитрофенол; 2,4-динитрофенол; 2-хлорфенол; 2-метил-4,6-динитрофенол; 2,4-диметилфенол; 4-хлор-3-метилфенол; 2,4-дихлорфенол; 2,4,6-трихлорфенол; пентахлорфенол. Предельно допустимые уровни концентраций фенолов в воде весьма низкие. Например, в России ПДУ в питьевой воде для фенолов, перегоняемых с паром, составляет 1 мкг/л [Перечень..., 1999]. Особую опасность представляют фенолы, которые обладают довольно высокой химической стабильностью и деградируют в

водоемах очень медленно. К ним относятся, в первую очередь, хлорфенолы и, особенно, пентахлорфенол.

Для определения фенолов используют ОФ ВЭЖХ на колонках с фазой C_{18} и УФ детектор [Сониясси и др., 1994]. Так как предел обнаружения фенолов этим методом составляет 1-10 нг/пик, а их допустимое содержание в природных водах очень низкое, то требуется предварительное концентрирование образца. Обычно это концентрирование выполняют методом жидко-жидкостной или твердофазной экстракции на фазах типа C_{18} [Сониясси и др., 1994], но сам фенол часто на многих фазах C_{18} концентрируется со значительными потерями. Этого недостатка нет у сверхсшитых полистирольных неподвижных фаз, которые обладают уникальной сорбционной способностью [Penner et al., 1999; Tsyurupa et al., 1995]. Более высокой чувствительностью при определении фенолов обладает метод ВЭЖХ-МС в сочетании с твердофазной экстракцией [Wissiacck et al., 2002]. Он требует для определения 21 фенола всего 10 мл воды.

Заметного повышения чувствительности определения фенолов при фотометрической детекции можно достичь путем превращения их в соединения с высоким коэффициентом молярной экстинкции. обстоятельный обзор по методам дериватизации фенолов (187 ссылок) можно найти в работе [Демьянов, 1992].

Фенолы, которые являются слабыми кислотами, можно разделять на анионообменниках с применением щелочных подвижных фаз, содержащих до 50% этанола или ацетонитрила [Naikwadi et al., 1984]. Органический растворитель добавляется в элюент для уменьшения степени диссоциации фенолов, что приводит к уменьшению их удерживания.

Важной аналитической задачей является определение хлорфенолов в приемных водоемах предприятий, производящих целлюлозу, при отбеливании которой используется хлор. Число хлорированных соединений фенольного типа в стоках может составлять 100-150; разделить и идентифицировать их даже методом капиллярной газовой хроматографии весьма трудно. С другой стороны, информация о каждом отдельном соединении не представляется необходимой, так как все они обладают примерно одинаковой токсичностью. Более

целесообразно проводить групповое определение хлорфенолов. Вариант группового анализа хлорфенолов методом ОФ ВЭЖХ, предложен в работах [Барам и др., 1991; Грачев и др., 1989]. В его основе лежит уникальная способность рыб накапливать из загрязненной воды хлорфенолы в желчи в виде глюкуронидов [Oikari et al., 1988]. Коэффициент биоаккумуляции при концентрации хлорфенолов в воде 1-10 мкг/л составляет 250000÷500000. Суть предложенного группового анализа хлорфенолов заключается в следующем:

- рыб помещали в садки из сетки с мелкой ячейкой, установленные в заданных местах водоема и выдерживали 3-5 суток без корма;
- отбирали желчь экспериментальной рыбы, гидролизовали ее щелочью и гидролизат нейтрализовали;
- нейтрализованный гидролизат наносили на колонку с обращенной фазой C_{18} и регистрировали хлорфенолы при $\lambda=210$ нм (УФ фотометр) в виде группы плохо разделенных пиков при градиентном элюировании от 50 до 90% MeOH.

Так как коэффициенты экстинкции хлорфенолов при выбранной длине волны близки, то суммарная площадь группы их пиков является мерой содержания веществ в образце. В соответствующей области хроматограммы гидролизата желчи контрольной рыбы пики каких-либо веществ отсутствовали. Для вычисления концентрации хлорфенолов в воде коэффициент биоаккумуляции принимали равным 100000. Цитируемая методика была апробирована при исследовании загрязненности участка Усть-Илимского водохранилища протяженностью 200 км стоками Братского целлюлозно-бумажного комплекса (Иркутская область) [Барам и др., 1991]. Найденный уровень суммарной концентрации хлорфенолов в загрязненных местах достигал 100 и более мкг/л. Преимущества группового определения хлорфенолов с помощью рыб-концентраторов очевидны: высокая производительность метода, отсутствие повышенных требований к эффективности колонки и к чувствительности детектора, получение усредненных по времени и акватории результатов, которые можно рассматривать как первичную информацию для оценки уровня загрязнения воды.

2.5.5. Пестициды.

Пестициды – огромный класс веществ (более 1000 названий), применяемых в сельском хозяйстве с самыми различными целями: средства борьбы с сорными растениями, вредными насекомыми и грызунами, регуляторы роста растений и т.д. Объединение этих соединений под одним названием "пестициды" весьма условно и не имеет никакого отношения к их химическому строению. Тем не менее, у всех пестицидов есть и нечто общее – они являются в той или иной мере токсичными веществами, содержание которых в окружающей среде необходимо строго контролировать. За очень редким исключением пестициды – токсины антропогенного происхождения.

Еще одна причина, почему мы рассматриваем пестициды отдельно от других веществ – продуктов органического синтеза – связана с тем, что главные источники поступления пестицидов в окружающую среду не являются локальными (выбросы предприятий-производителей), а представляют собой весьма обширные территории (сельскохозяйственные поля и леса).

Пестициды, которые обладают высокой стабильностью в условиях окружающей среды, имеют тенденцию накапливаться в различных природных объектах и переноситься атмосферой и водами на большие расстояния, представляют с точки зрения экологии повышенную опасность и наблюдаются особенно тщательно в рамках глобального мониторинга. К таким веществам относятся, прежде всего, хлорорганические инсектициды DDT (и его метаболиты DDE и DDD), гексахлорциклогексан, хлордан, токсафен и т.д. В развитых странах применение некоторых из них запрещено или ограничено.

Определение пестицидов во всех объектах окружающей среды осуществляется исключительно хроматографическими методами, а когда дело касается пестицидов, представляющих собой нелетучие (или труднолетучие) термолабильные соединения, методу ВЭЖХ в большинстве случаев альтернативы нет. В первую очередь к таким веществам относятся замещенные триазины и другие гетероциклические соединения, многочисленные карбаматы, мочевины, гиббереллины, фенилуксусные кислоты и пр. [Сонясси и др., 1994; Barcelo, 1997; Barcelo, 2000; Stan, 1995].

Большинство из перечисленных типов соединений являются достаточно гидрофобными веществами, содержат хромофорную группу, поглощающую УФ излучение, и могут определяться методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ детектором [Сониясси и др., 1994; Baram, 1996; Stan, 1995].

Для повышения чувствительности и селективности при определении непоглощающих УФ излучение пестицидов целесообразно использовать химическую дериватизацию [Stalikas et al., 2001]. Карбаматы, несмотря на то, что они достаточно хорошо поглощают УФ излучение, часто определяются на практике методом ОФ ВЭЖХ с послеколоночной дериватизацией (реакция с *орто*-фталевым альдегидом) и последующим детектированием по флуоресценции [De Llasera et al., 2001; Hill et al., 1984;]. Этот метод официально принят US EPA (метод 531.1). Анализатор карбаматов, работающий по такому принципу, серийно выпускается фирмой "Perkin Elmer" (США). Подробный обзор (149 ссылок), посвященный определению 31 пестицида карбаматного строения и 46 их метаболитов во всех объектах окружающей среды разными методами приведен в работе [McGarvey, 1993].

Учитывая низкие концентрации пестицидов в образцах и присутствие большого количества мешающих компонентов, при их определении важно исключить ошибки, связанные с неправильной идентификацией пиков на хроматограмме. Это достигается применением спектральных детекторов, дающих информацию не только о времени удерживания веществ, но и об их спектральных характеристиках. Ранее для этого применяли только УФ спектрофотометрические детекторы [Galera et al., 1997; Medvedovici et al., 1997], но в последние годы все чаще используют масс-спектрометры с различными системами ввода элюата и ионизации [Aguilara et al., 1999; Van der Heeft et al., 2000; Schreiber et al., 2000; Slobodnik et al., 1996].

Особенно сложны комплексные скриннинговые исследования объектов окружающей среды, когда в одном образце необходимо определить большое количество пестицидов и их метаболитов. В этих случаях приходится разрабатывать сложную стратегию подготовки образца и привлекать комплекс аналитических методов, включая и ВЭЖХ. Обстоятельные обзоры по этой

проблеме приведены в работах [Balinova, 1996; Font et al., 1993; Hatrik et al., 1996; Lagana et al., 2002; Liska et al., 1996].

Содержание пестицидов во всех объектах окружающей среды в развитых странах строго нормируется, и эти вопросы все чаще обсуждаются на международном уровне. Время от времени нормы пересматриваются, а те пестициды, которые в результате многолетних исследований признаются опасными, попадают в списки запрещенных к производству и применению. Большая роль в этом принадлежит таким международным организациям как Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ, WHO) и Продовольственная и сельскохозяйственная организация (FAO), которые разрабатывают свои нормативные документы, имеющие статус рекомендательных. В России нормирование допустимых концентраций пестицидов осуществляет Министерство здравоохранения, периодически издающее соответствующие документы. В настоящее время на территории Российской Федерации действуют "Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды" ГН 1.1546-96.

2.5.6. Взрывчатые нитросоединения.

Взрывчатые нитросоединения (ВНС) – характерные загрязнители окружающей среды исключительно антропогенного происхождения, попадающие в нее, главным образом, из районов военных действий и из мест добычи полезных ископаемых и крупных строек с применением взрывов. Менее значимые источники эмиссии ВНС – локальные стоки предприятий-производителей, военные полигоны и склады боеприпасов. Список ВНС включает в себя десятки названий, но широко применяются на практике не более 10-15 веществ. Некоторые нитросоединения, определяемые в окружающей среде, являются сопутствующими и представляют собой продукты деструкции взрывчатых веществ, образующиеся в результате взрыва.

ВНС можно поделить на два класса веществ – нитроароматические (нитробензолы и толуолы) и нитропроизводные многоатомных спиртов (тринитроглицерин, пентанитроэритрит, гексоген, октоген и др.). И те, и другие

могут определяться методом ОФ ВЭЖХ с УФ-фотометрической детекцией, но для неароматических соединений чувствительность метода относительно невысока.

Определенные проблемы возникают при необходимости разделения ВНС, когда их количество в смеси составляет 10 и более соединений. Так, в работе [Baram, 1996] удовлетворительный результат был получен только в варианте ион-парной ОФ ВЭЖХ (в присутствии тетрабутиламмония). В работе [Lang et al., 1999] авторы смогли разделить 14 соединений методом ОФ ВЭЖХ только на системе из двух последовательно соединенных колонок: Bondesil CN (4.6x30 мм) и Bondesil C18 (4.6x250 мм); другие колонки и их сочетания хороших результатов не дали.

Подготовку образца для определения ВНС можно осуществлять многими способами в зависимости от исследуемого объекта и от поставленной задачи, и этим они ничем не отличаются от других органических умеренно гидрофобных веществ [Halasz et al., 2002]. Отметим лишь оригинальный вариант микро-твердофазной экстракции семи ВНС из водных образцов, описанный в работе [Smith et al., 2003]. В качестве экстракционной колонки авторы применили обычный стальной капилляр (внешний диаметр 1/16"), заполненный 0.5-1.5 мг сорбента (LiChrolut EN или Porapak R). Предельное уменьшение размера колонки позволило элюировать вещества в объеме менее 5 мкл и сразу инжестрировать всю пробу в колонку, т.е. довести коэффициент ее использования до 100%.

2.5.7. Диэфиры *орто*-фталевой кислоты.

Диэфиры *орто*-фталевой кислоты – обособленный класс синтетических органических соединений, производимых промышленностью в огромных масштабах. Диметил-, диэтил- и дибутилфталат применяются как репелленты в сельском хозяйстве. Главным же представителем этого класса является ди(2-этилгексил)фталат (ДЭГФ), который используется в качестве пластификатора ряда пластмасс. В основном, это – поливинилхлорид, содержание в котором ДЭГФ и других фталатов может превышать 50%.

Источники эмиссии фталатов самые разные. Они попадают в окружающую среду из выбросов предприятий, производящих как сами фталаты, так и пластифицированные пластмассы; из пластмассовых труб, пленок, щитов и других изделий; из мест захоронений бытовых и промышленных отходов. Загрязненность окружающей среды фталатами такова, что даже в лабораторной дистиллированной воде их концентрация редко опускается до уровня ниже 1 мкг/л.

В научной литературе время от времени возникают споры по поводу биогенного происхождения некоторых диэфиров *орто*-фталевой кислоты, но убедительных доказательств о существовании "природных" фталатов пока никто не представил. Явная причина большинства сенсаций – загрязнение образцов антропогенными фталатами из воды, растворителей, воздуха, лабораторной посуды и химических реактивов в ходе анализа [Giam et al., 1984 (С.90-91)].

В объектах окружающей среды фталаты определяют методами ГХ с пламенно-ионизационным, электронно-захватным или масс-спектрометрическим детекторами [Furtmann, 1993; Jonsson et al., 2002; Penalver et al., 2000; Prokupková et al., 2002], а также методом ВЭЖХ-УФ [Барам, Азарова и др., 2000; Baram, 1996; Jara et al., 2000; Kelly et al., 1999].

Дополнительная информация о фталатах в окружающей среде приведена в Главе 4.

2.5.8. Полихлорированные бифенилы.

Полихлорированные бифенилы (ПХБ) являются широко распространенными антропогенными загрязнителями окружающей среды. Особое внимание к ним, как и к ряду других хлорорганических соединений, обусловлено тем, что в силу своей высокой гидрофобности и химической устойчивости, они долго сохраняются в окружающей среде и способны к значительной биоаккумуляции в жировых тканях организмов.

Количество изомеров ПХБ составляет 209 соединений, и разделить их можно только методом капиллярной ГХ. Жидкостная хроматография не обладает для этого достаточной эффективностью, но может быть использована

для фракционирования ПХБ на отдельные группы. Так, в работе [Jaouen-Madoulet et al., 2000] ПХБ фракционировали на колонке с Cosmosil 5-PYE ("Nacalai Tesque", Япония), представляющей собой привитую фазу 2-(1-пиренил)этилдиметил-силикагель. При этом достигалось разделение копланарных и некопланарных (*орто*-замещенных) ПХБ, что, в конечном итоге, облегчило задачу ГХ-анализа.

Вспомогательное ВЭЖХ-фракционирование на комбинации двух колонок – с нитрофенилпропилсиликагелем (Nucleosil-NO₂) и 2-(1-пиренил)этилдиметил-силикагелем (Cosmosil-PYE) – перед ГХ-МС-анализом использовали для определения в окружающей среде ПХБ, ПАУ и супертоксикантов – полихлорированных дибензодиоксинов и дибензофуранов [Bandh et al., 1996].

2.5.9. Синтетические поверхностно-активные вещества.

Синтетические поверхностно-активные вещества (СПАВ) – обширный класс веществ, производимых промышленностью в крупных масштабах. Эти соединения весьма устойчивы в условиях окружающей среды и накапливаются в природе в заметных количествах. Источники их эмиссии – сточные воды предприятий и коммунальные стоки.

СПАВ делят на три группы – неионогенные, катионные и анионные. Их общее свойство – присутствие в одной молекуле одновременно выраженной гидрофильной и гидрофобной групп. Все коммерчески доступные СПАВ, за редким исключением, не являются индивидуальными веществами и представляют собой смесь соединений-гомологов. Это обстоятельство сильно затрудняет определение СПАВ в окружающей среде, и успехи аналитической химии в данной области весьма скромные. Практическая применимость ВЭЖХ для определения СПАВ стала реальностью только после появления метода ЖХ-МС. До этого ВЭЖХ использовали в редких случаях, и, главным образом, лишь для определения СПАВ, поглощающих УФ излучение. В качестве примера сошлемся на работу [Fytianos et al., 1997], в которой многокомпонентный детергент определяли нормально-фазовой ВЭЖХ с УФ детекцией на силикагеле после жидко-жидкостной экстракции из сточных вод.

2.5.10. Другие синтетические органические соединения.

Кроме фенолов, пестицидов, нитросоединений, фталатов, ПХБ, СПАВ, химическая промышленность производит огромное количество других соединений (красители, мономеры пластмасс, лекарственные средства и т.д.), которые в той или иной степени попадают в окружающую среду со сточными водами, с воздушными выбросами, из мест захоронения твердых отходов, в результате производственных или транспортных аварий. Многие из них являются токсичными для человека, животных, рыб, растений. Эти вещества нормируют и контролируют.

В отличие от вышеперечисленных классов и групп веществ, такие соединения могут быть отнесены к локальным загрязнителям окружающей среды, не представляющим особой опасности в масштабах крупных экосистем. Как вещества-трассеры при исследовании больших экосистем их не используют. Исходя из этих соображений и из-за ограниченного объема настоящего обзора, мы не будем рассматривать "частные" органические загрязнители антропогенного происхождения.

2.5.11. Органические соединения тяжелых металлов.

Некоторые тяжелые металлы, попадая в окружающую среду, претерпевают множество различных превращений, в том числе под действием микроорганизмов. Для понимания этих процессов одного элементного анализа недостаточно, т.к. важно узнать, в какой форме находится элемент. В такого рода исследованиях одним из самых информативных методов является сочетание ОФ ВЭЖХ с масс-спектрометрической детекцией, в которой атомизация происходит в индуктивно-связанной плазме. С его помощью, например, можно быстро и надежно определять органические формы олова и ртути. Так, в донных осадках определяли дибутил-, трибутил-, дифенил- и трифенилолово, содержание которых составляло 6-15 мкг/г [Harrington, 2000; White et al., 1998], а также метил-, этил- и фенилртуть в донных осадках, в воде и в рыбе с чувствительностью анализа 10 нг/г [Harrington, 2000]. Интересно, что если в осадках и в воде содержание метилртути составляет 0.1-2% от общего

количества ртути, то в рыбе оно достигает до 80-90%. Очевидно, что это необходимо учитывать при токсикологических исследованиях.

Такие соединения, как соли дибутилолова, трибутилоловооксид, тетрабутилолово, трифенилоловоацетат, трифенилоловохлорид и трифенилоловогидрохлорид включены Европейским Союзом в список приоритетных загрязнителей окружающей среды [Сониясси и др., 1994].

2.5.12. Хлорофиллы и другие фитопигменты.

Фитопигменты входят в состав всех зеленых растений и некоторых бактерий, живущих как на суше, так и в воде. Они химически неустойчивы, и в свободном виде в окружающей среде не встречаются. Фитопигменты – первые вещества, которые разделял методом колоночной хроматографии М.С.Цвет, и именно с них берет начало история ЖХ [Цвет, 1903].

Фитопигменты – вещества исключительно гидрофобные. Их экстрагируют из растительных тканей или фитопланктона органическими растворителями и определяют методом ОФ ВЭЖХ с фотометрической детекцией в видимой части спектра или по флуоресценции. Можно применять в качестве детекторов и более распространенные УФ фотометры ($\lambda=300-360$ нм); чувствительность при этом по сравнению с детекцией в видимой части спектра падает всего в 2-2.5 раза [Глызина и др., 2002].

Информация о количественном содержании фитопигментов и о их качественном составе в исследуемых объектах представляет интерес для биологов и экологов, изучающих процессы фотосинтеза в водных и наземных экосистемах, видовой состав фитопланктона и пр. [Soma et al., 1993].

В работе [Eckardt et al., 1992] исследовали пути трансформации хлорофилла, и для установления структуры производных хлорофилла использовали метод ОФ ВЭЖХ-МС.

Фитопигменты как остатки фитопланктона определяют также и в донных отложениях [Soma et al., 1996]. С привлечением изотопного анализа (^{14}C) таким образом устанавливают возраст осадков [Tani et al., 2002].

2.5.13. Жиры и жирные кислоты.

Жиры (липиды) и их гидрофобный компонент – жирные кислоты (ЖК) – определяют в окружающей среде, главным образом, в водных объектах, куда они попадают из бытовых и промышленных стоков, а также из водных организмов, включая бактерии.

Каждый из классов жиров – глицериды, кислые и нейтральные фосфолипиды, гликолипиды и др. – представляет собой обширный набор соединений, отличающихся друг от друга остатками ЖК, имеющих не только разную длину, но и разное количество и расположение двойных связей. В тех случаях, когда ЖК имеют не линейную, а разветвленную структуру, к геометрической изомерии добавляется еще и структурная. Разделение таких сложных смесей на индивидуальные вещества возможно лишь с помощью многостадийных процедур с применением нормально- и обращенно-фазовой ЖХ. Очевидно, что эти варианты ЖХ должны быть препаративными, а детектирование – недеструктивным. В силу названных обстоятельств, жиры как индивидуальные соединения в объектах окружающей среды не анализируют, но с помощью ЖХ разделяют на классы для последующего определения входящих в их состав ЖК [Тевини и др., 1988; Christie, 1998].

Свободные ЖК и кислоты, получаемые в результате гидролиза липидов, чаще всего определяют в виде метиловых эфиров методом капиллярной ГХ с пламенно-ионизационным детектором, однако в ряде случаев более подходящим методом анализа является ВЭЖХ. Обладая заметно меньшими возможностями при разделении смесей, содержащих несколько десятков ЖК, она имеет одно важное преимущество – ненасыщенные кислоты могут определяться с помощью ОФ ВЭЖХ-УФ без предварительной дериватизации. В тех случаях, когда необходимо определить и насыщенные ЖК, их превращают в поглощающие УФ излучение соединения (чаще всего *para*-бром- или *para*-нитрофенацильные производные [Тевини и др., 1988; Sushchik et al., 1995]). Получаемые производные имеют высокий молярный коэффициент экстинкции, и предел их обнаружения в пробе составляет около 1 нг/пик. Еще более высоким поглощением обладают нафтацильные эфиры ЖК, образующиеся в результате

реакции с 2-бром-2'-ацетонафтоном [Rioux et al., 1999]. Предел обнаружения таких производных при $\lambda=246$ нм достигает 0.1 нг/пик.

2.5.14. Природные вещества в донных осадках.

Содержание тех или иных веществ в морских и озерных донных осадках является важной информацией для понимания многих процессов, протекающих на границе "вода-дно", а также для изучения истории самого водоема – определения его возраста и разнообразия населявших его в прошлом видов организмов. ВЭЖХ в такого рода исследованиях применяется относительно редко, но, тем не менее, для анализа целого ряда веществ ее использование целесообразно. Это касается в первую очередь веществ, являющихся продуктами распада планктонных организмов, захороненных в толще осадков. К таким веществам относятся фитопигменты и жирные кислоты, о которых мы уже говорили, а также аминокислоты белков. По соотношению *D*- и *L*-энантиомеров аминокислот, которое зависит от степени рацемизации природных *L*-изомеров, оценивают возраст осадков [Купцов, 1989; Fitznar et al., 1999]. *D*-изомеры ряда "неканонических" аминокислот входят в состав клеточных стенок многих бактерий, и они являются веществами-маркерами этих микроорганизмов.

Для определения энантиомеров аминокислоты обычно предварительно превращают во флуоресцирующие или УФ-поглощающие производные, которые разделяют методом ВЭЖХ на хиральных фазах [Bhushan et al., 1993]. Интересный методический подход для разделения пары "*L*-изолейцин/*D*-алло-изолейцин" применили в работе [Fitznar et al., 1999]: аминокислоты превращали в производные с двумя асимметрическими атомами углерода (реакция с *орто*-фталевым альдегидом в присутствии *N*-изобутирил-*D*- (или *L*)-цистеина), которые хорошо разделялись на колонке с обращенной фазой C_{18} .

Другими индикаторами возраста донных осадков, интересными также с точки зрения изучения процессов диагенеза, могут являться полициклический ароматический углеводород перилен и элементарная сера. Предполагается, что перилен образуется в осадках при разложении фотосинтетических пигментов фитопланктона [Soma et al., 1996]. Присутствие в осадках перилена, как и

свободной серы, связано с микробиологической активностью. Отмечена корреляция между содержанием в донных отложениях перилена и сероводорода, что позволяет предположить взаимосвязь между веществами-предшественниками перилена и деятельностью сульфатредуцирующих бактерий [Silliman et al., 1998]. В ряду различных форм серы, присутствующих в донных осадках – от сульфидной S^{2-} до сульфатной SO_4^{2-} – свободная сера S^0 занимает промежуточное положение [Скрябин, 1983; Остроумов, 1988]. Ее определение необходимо не только для представления полного биогеохимического цикла серы в осадках. Возможно, распределение свободной серы по глубине донных отложений, отражая суммарные условия осадкообразования, связано с изменениями палеоклимата.

Элементарная сера присутствует в донных осадках в виде молекул с различным числом атомов (в основном, в виде цикла S_8). Она обладает довольно высокой гидрофобностью, нерастворима в воде, хорошо растворяется в ацетоне, ацетонитриле, метаноле и может определяться методом ОФ ВЭЖХ [Möckel, 1984]. Сера обладает заметным поглощением в УФ области спектра (например, в изопропанолe $\epsilon_M^{263nm} = 6490 \pm 100 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [Strauss et al., 1987]), что позволяет ее детектировать с использованием УФ фотометра.

Сера и перилен могут определяться методом ОФ ВЭЖХ в ацетоновых экстрактах донных отложений одновременно и с весьма высокой чувствительностью: предел обнаружения составляет 2 нг перилена и 5 нг серы в пике [Azarova, 2001; Gorshkov, Azarova et al., 2001]. Для образцов донных осадков, содержащих большое количество гидрофобных органических веществ, в работе [Fabbri et al., 2001] предложено определять элементарную серу после ее окисления до сульфат-иона с помощью ионной хроматографии.

2.5.15. Токсины цианобактерий (синезеленых водорослей).

Синезеленые водоросли вырабатывают множество веществ-токсинов, которые в последние годы стали объектом интенсивного изучения. Токсины представляют реальную угрозу здоровью человека, особенно в связи с проблемой нехватки питьевой воды.

- Их делят на несколько групп соединений, главными из которых являются:
- микроцистины – более 60-ти циклических пептидов, состоящих из семи "неклассических" аминокислот (гепатотоксины);
 - нодуларины – циклические пептиды, содержащие пять аминокислот (гепатотоксины);
 - анатоксины – алкалоиды (нейротоксины).

Все эти вещества обладают разной степенью токсичности и иногда очень высокой. Так, содержание в питьевой воде некоторых микроцистинов не должно превышать 0.1-1 мкг/л [Oehrlé et al., 2002].

Токсины цианобактерий обнаруживают как в морских, так и в пресных водах. Особенно высокой их концентрация бывает в загрязненных водах в период "цветения" воды, содержащей много азота и фосфора. Для некоторых из этих веществ наблюдали "пиковые" концентрации около 100 мг/л [Oehrlé et al., 2002].

Определение токсинов синезеленых водорослей проводят методом ОФ ВЭЖХ с УФ-фотометрической детекцией [Lee et al., 1999; Rivasseau et al., 1998], с флуориметрической детекцией дериватов анатоксинов [Namera et al., 2002], с масс-спектрометрическим детектированием [Oehrlé et al., 2002].

2.5.16. Газы.

Газы не являются характерными аналитами, определяемыми методом ВЭЖХ, но для некоторых из них применение ВЭЖХ может оказаться целесообразным. В первую очередь это касается кислорода. Концентрация кислорода в природных водах может достигать 10 и более мг/л, что дает основание отнести его к макрокомпонентам.

Так как молекула кислорода неполярна, обладает умеренной гидрофобностью и является весьма сильным окислителем, то вполне очевидно, что растворенный в воде кислород можно определять методом ОФ ВЭЖХ с электрохимическим детектированием. Чувствительность такого метода позволяет определять его при очень низких концентрациях, вплоть до 10^{-8} М [Stubauer et al., 1997]. Определение кислорода проводили в следующих

условиях: колонка – Eurospher RP-8ec, 250x4 мм; элюент – 0.01 М K_2HPO_4 (рН 7)/метанол (7:3); потенциал детектора –650 мВ. Однако достичь такой чувствительности на практике довольно трудно: мешает "посторонний" кислород воздуха и кислород, растворенный в элюенте. Для того, чтобы убрать эти помехи, авторы работы [Seppi et al., 1997] разработали и успешно испытали специальное устройство.

Кислород в элюате можно регистрировать и по поглощению им УФ излучения при $\lambda=200$ нм, но чувствительность анализа при этом весьма низкая – 5.5 мг/л или 570 нг/пик [Барам и др., 1999]. Однако, если для определения кислорода, растворенного в воде, метод ОФ ВЭЖХ-УФ малоприменим, то для определения содержания кислорода в воздухе – оно при нормальном атмосферном давлении составляет более 200 мг/л – он вполне применим, причем для анализа достаточно всего 1 мкл воздуха, который инжектируется непосредственно в колонку.

Об определении углекислого газа, растворенного в воде, мы уже упоминали в разделе "Ионы". Его определяют с помощью одноколоночной ионной хроматографии с нейтральной подвижной фазой. В двухколоночной ионной хроматографии, когда в качестве подвижной фазы применяют разбавленные растворы щелочей, предотвратить мешающее влияние углекислого газа атмосферы, интенсивно поглощаемого элюентом, технически весьма трудно.

Еще одним газом, определяемым методом ВЭЖХ, является сероводород. Принципиально его можно анализировать с помощью ионной хроматографии в виде иона HS^- , но этот анион удерживается в колонке очень слабо. Анион S^{2-} в типичных для ионной хроматографии подвижных фазах практически не образуется из-за плохой диссоциации аниона HS^- ($pK_a \approx 12$). Очень высокая чувствительность определения сероводорода в воде (несколько мкг в литре) достигается с помощью его химической дериватизации с последующим анализом производных методом ОФ ВЭЖХ-УФ. Удобными реагентами для дериватизации сероводорода являются 2-иод-1-метилпиридиний хлорид [Bald et al., 1993] и N,N-диметил-*n*-фенилендиамин [Tang et al., 2000].

2.6. Заключение.

Рассмотренные нами примеры применения ВЭЖХ для анализа объектов окружающей среды, разумеется, не исчерпывают все возможности этого метода. Постоянно расширяющийся круг аналитов и объектов, появление новых задач и увеличение объема проводимых исследований являются мощным стимулом для развития ВЭЖХ.

В последнее время большое внимание уделяется глобальному загрязнению, и это требует повышения чувствительности анализа, вызванного необходимостью определения содержания аналитов в "фоновых" (наиболее чистых) районах мира. Так как эти районы удалены от населенных пунктов, все большую актуальность приобретает необходимость проведения исследований непосредственно на месте отбора проб, в условиях полевых лабораторий. Только при таком подходе удастся исключить возможные изменения состава образцов в процессе их хранения и транспортировки и оперативно менять стратегию исследований в зависимости от получаемых результатов.

Проведение ВЭЖХ анализов в полевых условиях накладывает ряд важных требований к применяемой аппаратуре и методологии. Развитие жидкостной хроматографии в этом направлении, как нам представляется, должно идти по пути миниатюризации оборудования, уменьшения количества используемых растворителей и вспомогательных материалов и унификации аналитических методик. Тенденции такого развития ВЭЖХ уже ясно просматриваются: уменьшается объем колонок и, тем самым, объем растворителей-элюентов; активно внедряются "универсальные" методы подготовки образцов, такие как твердофазная экстракция и ее микровариант; унифицируются методики анализа, при которых ассортимент применяемых сорбентов и растворителей сводится к минимуму. Все это создает предпосылки для появления компактных химико-аналитических лабораторий широкого профиля, в которых ВЭЖХ может стать "главным" методом. При этом будет достигнута еще одна важная цель – получаемые в разных лабораториях данные будут объективно сопоставимы.

3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.

3.1. Оборудование.

В работе использовали жидкостный хроматограф "Миличром А-02" (ЗАО "ЭкоНова", Новосибирск), устройство которого описано в работе [Baran, 1996], насос высокого давления модель 305 фирмы "Gilson" (Франция), ультразвуковую ванну UM-4 ("Unitra", Польша), батометры емкостью 1 л из нержавеющей стали.

3.2. Материалы.

3.2.1. Хроматографические материалы.

Для аналитической ВЭЖХ использовали колонки 2x75 мм, заполненные фазами Nucleosil 100-5 C₁₈, Nucleosil 100-5 C₁₈ PAK, Nucleosil 100-5 C₁₈ AB и Nucleosil 300-5 C₈ ("Machery-Nagel", Германия); Kromasil 100-5-C₁₈, Kromasil 100-5-C₈, Kromasil 100-5-C₄ ("EKA Chemicals", Швеция); ProntoSIL 120-5-C₁₈ AQ, ProntoSIL 120-5-C₁₈ SH ("BISCHOFF Analysetechnik", Германия); Silasorb SPH-C₁₈, 5 мкм ("Chemapol", ЧССР).

Для ТФЭ использовали картриджи BAKERBOND spe Octadecyl (3 мл, 500 мг) фирмы "J.T.Baker" (США) и картриджи с Silasorb -C₁₈ (LC), 15 мкм ("Chemapol", ЧССР).

Для очистки воды от органических примесей применяли картридж "Norganic" ("Millipore Corporation", США) или колонку 19x150 мм с фазой μ Bondapak C₁₈, 10 мкм ("Waters", США).

3.2.2. Химические материалы.

Ацетонитрил для ВЭЖХ "сорт 1" и "сорт 0" ("Криохром", Санкт-Петербург), метанол, изопропанол, гексан, гидроокись калия (все – марки "ч.д.а.").

Для приготовления контрольных калибровочных растворов использовали эфиры *орто*-фталевой кислоты (диметил-, диэтил-, ди-*n*-бутил-, *n*-бутилбензил-, ди(2-этилгексил)-, ди-*n*-октил-, ди-*n*-нонил-) и нафталин фирмы "Supelco, Inc." (США), калия бифталат марки "ч.д.а."

3.3. Методы.

3.3.1. Очистка растворителей.

Метанол и изопропанол кипятили 1 час с КОН (20 г/л) и перегоняли.

Дистиллированную воду очищали от следов органических веществ, пропуская ее через картридж "Norganic" (без давления) или через колонку с μ Bondapak C₁₈ (насосом "305-Gilson") со скоростью 10 мл/мин.

Гексан встряхивали с концентрированной серной кислотой (5% по объему) в делительной воронке, декантировали, затем промывали очищенной водой, сушили в присутствии прокаленного CaCl₂ и перегоняли [Гордон и др., 1976].

3.3.2. Подготовка посуды и оборудования для определения фталатов.

Для отбора, хранения и обработки проб использовали посуду и приспособления только из стекла и нержавеющей стали. Контакты проб и приспособлений с пластиком исключались.

Стеклопосуду выдерживали сутки в 1 М водном растворе КОН, затем промывали очищенной водой, герметично закрывали пробками с прокладками из алюминиевой фольги или стеклянными пробками и в таком виде хранили до анализа. Металлические шпатели, трубки для отбора снега и донных осадков и пр. промывали детергентами, затем водой и протирали очищенным метанолом; хранили упакованными в алюминиевую фольгу.

Перед работой с водными растворами фталатов и водными пробами особое внимание уделяли подготовке хроматографа. Насосы и инжектор многократно промывали очищенным метанолом, а насос "А" затем – очищенной водой. В хроматографическую процедуру "АНАЛИЗ" автоматическую промывку инжектора и иглы не включали.

3.3.3. Твердофазная экстракция ПАУ и фталатов.

Для ТФЭ ПАУ и фталатов из модельных водных растворов использовали картриджи BAKERBOND spe Octadecyl (3 мл, 500 мг), а также картриджи собственного изготовления. Последние представляли собой полипропиленовый

корпус медицинского шприца емкостью 5 мл, в который между двух запрессованных фильтров из нержавеющей стали толщиной 2 мм с размером пор 2 мкм помещали 50±100 мг ОФ-сорбента Silasorb C₁₈. Скорость подачи пробы воды до 20 мл/мин обеспечивали давлением аргона, скорость подачи до 10 мл/мин достигалась при помощи вакуумирования (рис. 1).

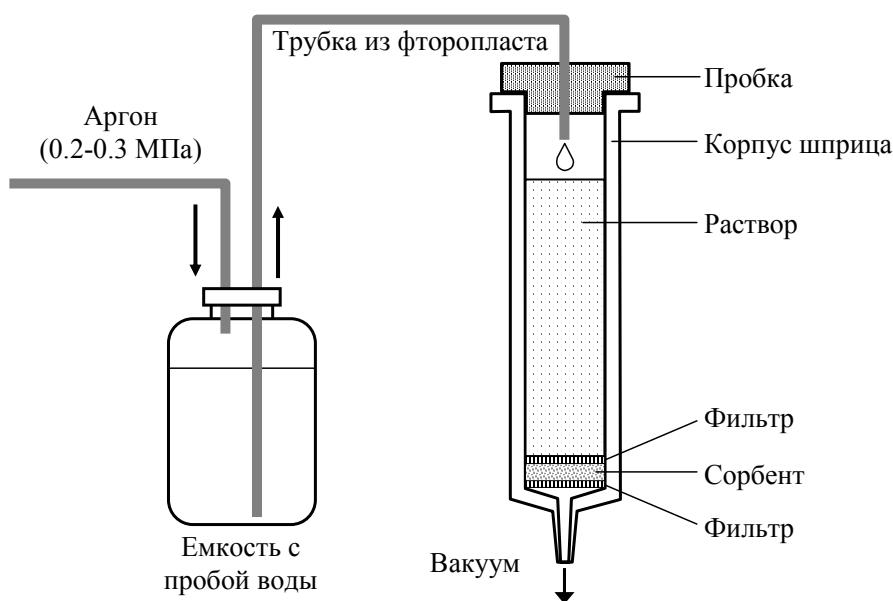


Рис. 1. Устройство для ТФЭ с экспериментальным картриджем.

При работе с картриджами применяли процедуру подготовки пробы, рекомендованную для концентрирования фталатов из питьевой воды [Bakerbond, 1986] и включающую в себя следующие стадии:

- кондиционирование (2х6 мл метанола под вакуумом);
- промывку (3х6 мл воды для ВЭЖХ, не допуская высыхания патрона);
- нанесение пробы исследуемой воды;
- промывку картриджа (6 мл воды для ВЭЖХ);
- сушку картриджа под вакуумом в течение 7 мин;
- элюирование фталатов (3х0.5 мл метанола);
- упаривание растворителя в токе азота, растворение остатка в 100 мкл MeOH.

3.3.4. Отбор проб воды для определения ДЭГФ.

Пробы поверхностной воды отбирали в подготовленные стеклянные

бутыли емкостью 1 л, герметично закрывающиеся пробками с вкладышами из алюминиевой фольги. Перед набором пробы бутылки трижды промывали исследуемой водой. В каждой точке брали по 2 параллельные пробы, добавляя 2% (об.) изопропанола. Анализировали воду сразу после отбора в условиях полевой лаборатории. В отдельных случаях пробы воды хранили не более 5 часов при +4°C.

Глубинную воду из оз. Байкал отбирали с помощью батометров из нержавеющей стали емкостью 1 л. Предварительно батометры тщательно промывали с помощью детергентов, затем водопроводной и очищенной водой. Перед отбором проб батометры в открытом состоянии помещали в воду озера на глубину около 5 м и выдерживали не менее 2 часов. В каждой точке отбирали по 2 параллельные пробы в отдельные батометры. После подъема пробы помещали в стеклянные бутылки емкостью 1 л, добавляя 2% (об.) изопропанола и анализировали не позже, чем через 1 час.

Анализ глубинной воды в летний период проводили в условиях корабельной лаборатории на научно-исследовательском судне "Г.Титов", а в зимнее время – в лаборатории, расположенной на льду оз. Байкал.

Схема отбора проб воды приведена на рис. 2.

3.3.5. Проверка обращенно-фазовых сорбентов на "коллапс" в водных подвижных фазах.

Колонки с обращенными фазами промывали 1 мл 2% водного ацетонитрила, а затем хроматографировали 2 мкл экстракта черного чая в 50% этаноле в линейном градиенте (вода-ацетонитрил) от 2 до 50% CH₃CN (30 мин). Скорость потока 0.1 мл/мин; детектирование при $\lambda=270$ нм; температура +35°C.

3.3.6. Методика определения ДЭГФ в воде.

Пробы воды объемом до 20 мл инжестировали в колонку насосом "А" хроматографа со скоростью 0.2 мл/мин. Пробы воды объемом 50 мл инжестировали с помощью насоса "Gilson-305" со скоростью потока 1 мл/мин.

Элюирование осуществляли смесями ацетонитрил/вода или метанол/вода (9:1) из насоса "В" в изократическом режиме со скоростью 0.2 мл/мин. Элюат детектировали при $\lambda=200$ нм или одновременно при $\lambda_1=200$ нм и $\lambda_2=210$ нм. Температура аналитической колонки была равна 50°C.

Чтобы исключить ошибки, связанные с влиянием "лабораторного фона" и процессами сорбции-десорбции на стенках посуды, характерными при использовании водных калибровочных растворов с концентрациями на уровне 1 мкг/л, для проведения градуировки хроматографа применяли растворы фталатов в очищенном метаноле.

3.3.7. Определение ДЭГФ в пробах снега, льда и дождевой воды.

Пробы снега отбирали на всю глубину снежного покрова металлической трубкой диаметром 50 мм (по 3 керна в каждой точке) в подготовленные стеклянные банки емкостью 3 л и хранили при $t=-18^\circ\text{C}$. Перед проведением анализа усредненную путем перемешивания пробу снега помещали в стеклянный шприц емкостью 50 мл и оставляли для таяния при комнатной температуре. К полученной талой воде добавляли 3% (об.) изопропанола, перемешивали и через 15 мин фильтровали через фильтр из нержавеющей стали (диаметром пор 2 мкм). Карта отбора проб снега приведена на рис. 3.

ДЭГФ определяли в верхних 10 см льда (толщина льда составляла 100-105 см) непосредственно в лаборатории, расположенной на льду оз. Байкал. Анализ проводили сразу после таяния льда, воду не фильтровали.

Пробы дождевой воды собирали с помощью стеклянной воронки диаметром 15 см в подготовленную стеклянную посуду в течение всего периода выпадения осадков. Отбор проб проводили в парковой зоне г. Иркутска (Академгородок). Воду анализировали сразу после отбора, без фильтрации.

Определение ДЭГФ в пробах снега, льда и дождевой воды проводили так же, как и в пробах поверхностной и глубинной воды.

3.3.8. Моделирование сорбции ДЭГФ на взвешенных частицах.

Для моделирования процессов сорбции ДЭГФ на взвешенных частицах использовали 2 образца донных отложений оз. Байкал, предоставленные д.г.н. И.Б.Мизандронцевым (ЛИН СО РАН). Образец №1 (тонкий мелко-алевритовый ил с включениями диатомита) содержал 3.70% органического углерода, образец №2 (ил с песком) содержал 1.52% органического углерода.

По 400 мл раствора ДЭГФ в очищенной воде с концентрацией 60 мкг/л помещали в 3 колбы емкостью 500 мл. В две из них добавляли высушенный и измельченный осадок до концентрации 5 г/л, третья колба служила для контроля сорбции ДЭГФ на стенках. Исследование проводили при комнатной температуре. Концентрацию ДЭГФ в водной фазе определяли в пробах суспензии объемом 5 мл, после центрифугирования (10000 g, 10 мин) и последовательного фильтрования через фильтры с диаметром пор 2 и 0.45 мкм. Параллельно анализировали контрольный раствор. Растворы хроматографировали в тех же условиях, что и образцы природной воды, с прямой инъекцией пробы объемом 1-2 мл.

3.3.9. Определение ДЭГФ в почве и донных отложениях.

Отбор образцов почвы проводили с глубины 0÷10 см сразу после таяния снега (апрель 2001 г.) в парковой зоне г. Иркутска (Академгородок).

Образцы донных отложений были взяты в Южной котловине оз. Байкал со льда (март 2001 г.) с помощью пробоотборной трубки с глубины 1360 м. Сразу после отбора верхнюю часть керна (10 см) разделили на слои: верхние 5 см с шагом 0.5 см, далее с шагом 1 см (всего 15 образцов). Образцы хранили в стеклянной таре герметично закрытыми при $t=-18^{\circ}\text{C}$.

Для определения содержания влаги навеску (1 г) почвы или донных отложений сушили при 60°C до постоянного веса.

Определение ДЭГФ проводили из образцов естественной влажности. К 2 г пробы добавляли 1 мл изопропанола, перемешивали и выдерживали 10 мин на ультразвуковой бане. Затем добавляли 3 мл гексана, перемешивали и проводили экстракцию на ультразвуковой бане в течение 30 мин. Осадок отделяли на

центрифуге (10000 g, 15 мин), отбирали 2 мл гексанового слоя и упаривали раствор в токе азота досуха. Остаток перерастворяли в 50 мкл метанола и 10÷20 мкл раствора вводили в хроматограф. Параллельно анализировали холостые пробы. Условия анализа в подписи к рис. 16.

3.3.10. Определение ДЭГФ во взвеси в речной воде.

Образцы взвеси из воды р. Селенга (май 2002 г.) были получены путем отстаивания в стеклянных бутылках емкостью 20 л. Бутыли заполняли речной водой; после оседания взвешенных частиц в течение 15-20 часов основную часть воды сливали и добавляли новую порцию воды. Таким образом была собрана взвесь из 200 л воды. Суспензию центрифугировали, и собранную взвесь сушили до постоянного веса при 60°C. Было получено 9.4 г осадка.

500 мг сухого осадка помещали в стеклянную пробирку на 5 мл, добавляли 1 мл метанола и выдерживали на ультразвуковой бане 15 мин. Экстракт отделяли на центрифуге. 250 мкл экстракта упаривали в токе аргона досуха, остаток растворяли в 50 мкл метанола и 10 мкл вводили в колонку. Условия анализа в подписи к рис. 16.

3.3.11. Исследование кинетики щелочного гидролиза ДЭГФ.

Для исследования процесса щелочного гидролиза ДЭГФ в водно-спиртовой среде к 4 мл раствора ДЭГФ в метаноле (1.12 мг/мл) добавляли 1 мл 5 М раствора КОН в очищенной воде. Таким образом, исходная концентрация ДЭГФ составляла $2.3 \cdot 10^{-3}$ М, концентрация щелочи 1 М. Реакцию проводили при $t=+50^{\circ}\text{C}$. Для анализа отбирали по 50 мкл реакционной смеси, добавляли 4 мкл концентрированной H_3PO_4 , 46 мкл очищенной воды и 20÷5 мкл полученного раствора анализировали. Условия определения фталевой кислоты в подписи к рис. 21. ДЭГФ определяли параллельно, условия в подписи к рис. 4.

3.3.12. Определение суммы фталатов в жире нерпы и омуля.

Образец жировой ткани байкальского тюленя *Phoca Sibirica Gmel.* (самка,

возраст 8 лет, 2001 г.) был предоставлен М.В.Пастуховым (Институт геохимии СО РАН). Жир хранился при $t=-18^{\circ}\text{C}$, герметично закрытым в стеклянной посуде.

Образцы омуля *Coregonus autumnalis migratorius* (2 шт., длина тела 27 и 25 см) были добыты в июле 2002 г. Сразу после отлова рыба была упакована в алюминиевую фольгу и хранилась до анализа при $t=-18^{\circ}\text{C}$. Жир экстрагировали из гомогенизированной мышечной ткани гексаном. Содержание жира составило в среднем 3.5%.

Сумму фталатов в жире нерпы и омуля определяли после гидролиза по количеству образовавшейся фталевой кислоты. Гидролиз 1 г жира проводили в 2 мл 2 М раствора КОН в 80% метаноле при $t=+50^{\circ}\text{C}$ в течение 12 часов. Неомыляемую фракцию после гидролиза экстрагировали гексаном. К полученному гидролизату добавляли концентрированную H_3PO_4 до pH 4, затем разбавляли раствор в 3 раза водой. ЖК удаляли экстракцией гексаном (2 x 1 мл). Полноту удаления ЖК контролировали визуально путем упаривания капли гексанового экстракта на предметном стекле. Гидролизат упаривали в токе аргона, остаток растворяли в 200-500 мкл 0.1 М раствора H_3PO_4 и анализировали.

3.3.13. Определение ДЭГФ в лабораторном оборудовании и материалах.

Для оценки возможного вторичного загрязнения проб глубинной воды батометры заполняли очищенной водой, выдерживали 1 ч (время нахождения в батометре воды, поднимаемой с максимальной глубины) и анализировали.

Для оценки возможности загрязнения проб глубинной воды веществами из смазки троса гидрологической лебедки, отрезок троса (50 см) промывали метанолом с помощью ватного тампона и полученный раствор анализировали. Параллельно анализировали холостую пробу.

Оценку уровня концентрации ДЭГФ в воздухе лаборатории проводили путем барботирования с помощью перистальтического насоса определенных объемов воздуха через 5%-ный раствор изопропанола в очищенной воде. Раствор анализировали до и после пропускания воздуха.

Возможную эмиссию ДЭГФ из материала картриджей для ТФЭ оценивали, нанося на картридж 1÷2 мл MeOH после его кондиционирования очищенным MeOH и сушки. Элюат упаривали, остаток растворяли в 50 мкл MeOH и полученный раствор хроматографировали. Параллельно анализировали холостую пробу (концентрировали соответствующее количество метанола).

Для определения содержания ДЭГФ в поливинилхлориде его измельченные образцы (по 200 мг) экстрагировали гексаном (2 x 2 мл, 25°C, 24 часа). По 50 мкл полученных экстрактов упаривали в токе аргона, остаток растворяли в 2 мл MeOH и полученные растворы хроматографировали.

3.3.14. Изучение биodeградации ДЭГФ.

Для моделирования биodeградации ДЭГФ использовали пробы воды из р. Селенги, пробы донных отложений из дельты р. Селенги, а также чистые культуры микроорганизмов.

В речную воду добавляли ДЭГФ до 100 мкг/л и по 50 мл полученного раствора помещали в подготовленные стеклянные колбы. Пробы выдерживали в холодильнике при $t=+4^{\circ}\text{C}$. Для получения кинетической кривой разложения ДЭГФ образцы воды анализировали через определенные промежутки времени, соответствующие динамике развития микроорганизмов в закрытой системе. С целью оценки возможного уменьшения содержания ДЭГФ за счет сорбции на посуде одновременно анализировали аналогичные пробы, подвергнутые предварительной стерилизации (120°C, 20 мин.).

Для модельного эксперимента по 10 г влажных донных осадков помещали в подготовленные стеклянные колбы. К осадку добавляли раствор ДЭГФ в MeOH (исходная концентрация ДЭГФ составляла 15 мкг/г на сухой вес осадка). Пробы выдерживали при $t=+4^{\circ}\text{C}$. Содержание ДЭГФ определяли на 3, 7, 11, 15 и 18 сутки. Фталат экстрагировали на ультразвуковой бане (2x15 мин), добавляя в осадку последовательно 5 мл изопропилового спирта и 15 мл гексана. Затем отбирали по 7 мл экстракта, отделяли взвесь на центрифуге (3000 g, 15 мин) и 5 мл экстракта упаривали на роторном испарителе. Остаток растворяли в 100 мкл MeOH и анализировали. Для контроля параллельно анализировали

пробы стерильного осадка с добавкой такого же количества ДЭГФ.

Эксперименты с чистыми культурами микроорганизмов проводили с использованием раствора ДЭГФ в предварительно стерилизованной очищенной воде. Начальная концентрация ДЭГФ составляла 280 мкг/л. Для контроля использовали стерильный раствор ДЭГФ. Пробы выдерживали в течение 11 сут при $t=+4^{\circ}\text{C}$ и определяли концентрацию ДЭГФ в образцах культуральной жидкости объемом 2 мл.

4. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

4.1. Постановка задачи.

4.1.1. Введение.

Изучение поведения различных химических веществ в водных экосистемах является не только важным подходом к исследованию протекающих в них процессов, но и является необходимым этапом создания системы химического мониторинга.

Вещество природного или антропогенного происхождения, попадая в водоем, мигрирует в нем и претерпевает различные превращения, определяемые большим количеством разнообразных факторов. С одной стороны, эти превращения связаны со свойствами вещества (химическая реакционная способность, растворимость, полярность), а с другой стороны, они зависят от особенностей самой экосистемы. Изучение поведения того или иного вещества в конкретной водной экосистеме можно рассматривать как важный подход к пониманию механизмов функционирования как ее отдельных звеньев, так и всей системы в целом.

В Главе 2.4. мы рассмотрели типичные задачи, решаемые с помощью химического анализа при исследовании окружающей среды. Эти задачи можно условно разделить на две группы. В первую группу входят относительно простые задачи, связанные с изучением поведения вещества-трассера (вещества-маркера), которое попадает в экосистему только из одного локального источника, например, из сточных вод промышленного предприятия. Вторая группа включает в себя существенно более сложные задачи, когда вещество-трассер попадает в экосистему из многих источников, включая атмосферные осадки. Очевидно, что в таких случаях сложность задачи прямо связана с площадью водосборного бассейна экосистемы, ее геологическими и ландшафтными особенностями, с климатическими характеристиками региона и пр. Все эти факторы, в конечном счете, определяют объем химико-аналитической работы, который зависит от количества мест отбора образцов, от периодичности отбора образцов, от типа образцов и от трудоемкости процедур химического анализа.

Изучение поведения вещества-трассера в большой водной экосистеме требует привлечения значительных людских и финансовых ресурсов на протяжении весьма длительного времени. Отсюда очевидно, что важным первоначальным этапом всего исследования является разработка его оптимальной стратегии и тактики, а также оптимизация аналитических процедур с целью минимизации всех затрат.

4.1.2. Экосистема озера Байкал как объект исследования.

Объект нашего исследования – экосистема озера Байкал – уникален во многих отношениях. Он имеет следующие характерные особенности [Байкал, Атлас, 1993; Грачев, 2002]:

- возраст озера – 25 млн. лет;
- максимальная глубина озера – 1637 м;
- длина озера – 636 км;
- максимальная ширина озера – 79.5 км;
- длина береговой линии озера – более 2000 км;
- площадь водного зеркала – 31500 км²;
- объем воды в озере – 23000 км³;
- площадь водосборного бассейна – около 570000 км².

Ежегодно в Байкал втекает с притоками и вытекает через р. Ангара 60 км³ воды. Время полного замещения байкальской воды водами притоков составляет более 300 лет. Главные притоки Байкала – реки Селенга, Баргузин и Верхняя Ангара, протекающие по территории Республики Бурятия (р. Селенга берет начало в Монголии). Они приносят в озеро основной объем загрязнений от промышленных предприятий и сельскохозяйственных угодий. Загрязнения от предприятий Иркутской области, расположенных в долине р. Ангара, попадают в озеро через атмосферу.

Крупнейшим промышленным предприятием, расположенным на берегу озера, является Байкальский целлюлозно-бумажный комбинат. Этот комбинат, проходящие по берегам Байкала участки Транссибирской и Байкало-Амурской железнодорожных магистралей и расположенные по берегам озера небольшие

населенные пункты можно рассматривать как локальные источники загрязнения.

Оз. Байкал полностью покрывается льдом в конце января и освобождается ото льда в конце мая. Как во всех замерзающих озерах, вода в Байкале дважды в год хорошо перемешивается до самого дна.

Вода оз. Байкал относится к маломинерализованным (концентрация солей около 100 мг/л). Содержание главных ионов в глубинной воде по данным из работы [Сутурин и др., 2002] составляет (мг/л): кальций – 15.9; магний – 2.9; натрий – 3.3; калий – 0.9; бикарбонат – 66; сульфат – 5.4; хлорид – 0.5. Причины расхождений между данными разных авторов по содержанию в глубинной воде главных ионов и микроэлементов обсуждаются в работе [Грачев, 2002].

Значение рН байкальской воды лежит в интервале 7.4÷8.2, а концентрация взвешенных частиц изменяется от 0.1 до 0.5 мг/л [Вотинцев, 1961].

Биота оз. Байкал представлена большим количеством видов, многие из которых являются эндемичными. Единственное млекопитающее, живущее в Байкале – байкальский тюлень (нерпа) *Phoca sibirica*. Он является вершиной пищевой цепи в экосистеме озера. Число этих животных оценивается в 80-120 тысяч.

Оценочное содержание в байкальской воде фитопланктона составляет 30÷50 мкг/л, зоопланктона – менее 40 мкг/л, бактерий – $0.3 \cdot 10^9$ клеток/л.

4.1.3. Выбор вещества-трассера для изучения его поведения в экосистеме озера Байкал.

Изучение поведения вещества-трассера в водной экосистеме предполагает определение его концентрации в различных звеньях экосистемы в течение определенного периода времени. Очевидно, что чем больше звеньев экосистемы исследуются, тем больше информации о функционировании экосистемы можно получить. Схема экосистемы озера Байкал и главные пути миграции вещества-трассера в ней показаны на рис. 2.

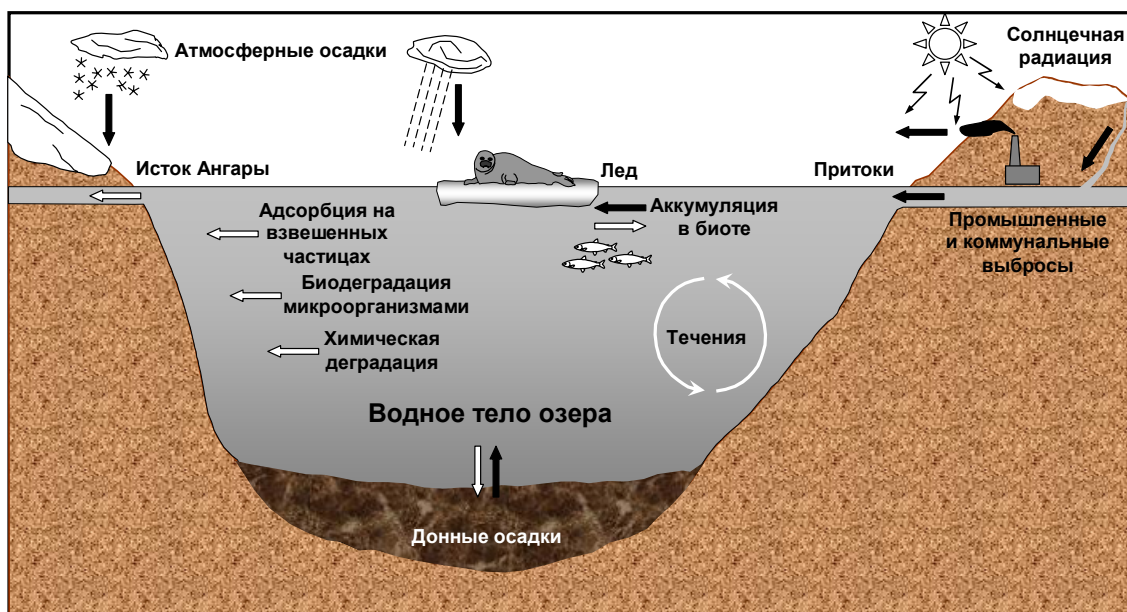


Рис. 2. Схема экосистемы оз. Байкал и возможные пути поступления (черная стрелка) и удаления (белая стрелка) вещества-трассера.

Важнейшим условием, необходимым для получения однозначно интерпретируемых результатов, является выбор самого вещества-трассера. При выборе такого вещества, пригодного для изучения его поведения в экосистеме оз. Байкал, мы руководствовались следующими критериями:

1. Вещество-трассер может быть экзогенного, эндогенного или смешанного происхождения. Знание происхождения вещества необходимо для правильного понимания результатов наблюдения.
2. Содержание вещества-трассера в экосистеме не должно быть слишком низким, т.к. в этом случае его концентрация может резко колебаться в течение коротких отрезков времени в отдельных участках экосистемы. Очевидно, что для наблюдения за поведением таких веществ в огромной экосистеме оз. Байкал потребуются создание очень плотной сети станций мониторинга. С другой стороны, содержание вещества-трассера в экосистеме не должно быть и слишком высоким, т.к. попадание в экосистему новых порций вещества останется практически незаметным. Связь между количеством вносимого в Байкал вещества и его концентрацией в воде (вопрос "концентрационной чувствительности") подробно обсуждается в работе [Грачев, 2002].

3. Вещество-трассер должно быть химически достаточно устойчивым и не разрушаться в течение длительного времени под действием солнечной радиации и воды.
4. Из экономических соображений вещество-трассер должно определяться во всех исследуемых объектах экосистемы максимально быстро, просто и с удовлетворительной погрешностью анализа. Для ускорения работы, сокращения расходов на транспортировку и хранение образцов, для оперативной корректировки плана работы и схемы отбора проб важно, чтобы анализы можно было бы проводить в полевых условиях.

При выборе вещества-трассера, исходя из вышеприведенных критериев, мы исключили из рассмотрения все вещества, концентрация которых в байкальской воде выше уровня 1 мг/л (главные "консервативные" ионы). Содержание каждого из них в озере (объем воды 23000 км³) превышает 20 млн. тонн и трудно ожидать, что оно может заметно меняться во времени под воздействием как внешних, так и внутренних причин [Грачев, 2002].

Также были исключены из рассмотрения вещества, концентрация которых находится на уровне ниже 1 нг/л. К ним относятся хлорорганические пестициды DDT (и его метаболиты DDD и DDE), хлордан, гексахлорбензол, гексахлорциклогексан, гептахлор, токсафен, а также ПХБ и ПАУ, общее содержание каждого из которых в оз. Байкал составляет менее 25000 кг [Грачев, 2002]. Учитывая значительную площадь водного зеркала озера, огромную площадь его водосборного бассейна и относительно малые количества названных веществ, трудно ожидать, чтобы их поступление в озеро не зависело бы от многих случайных факторов. Это, в свою очередь, привело бы к изменению содержания веществ в отдельных звеньях экосистемы, интерпретировать которые в дальнейшем оказалось бы весьма сложно.

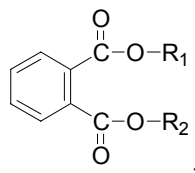
Подробный химический анализ глубинной байкальской воды, выполненный в Институте Фрезениуса (Fresenius Consult GmbH, Германия) в 1995 г. для проверки ее соответствия нормам, предъявляемым к питьевой воде, не обнаружил в ней ни одного вещества антропогенного происхождения, концентрация которого заметно превышала бы уровень 1 нг/л [Грачев, 2002].

Тем не менее, вещество экзогенного происхождения, концентрация которого в глубинной байкальской воде составляет около 1 мкг/л, известно: это ди(2-этилгексил)фталат (ДЭГФ) [Baram, 1996]. Исходя из его концентрации, общее содержание ДЭГФ в Байкале оценивалось примерно в 20000 тонн, и по этому критерию он оказался лучшим кандидатом на вещество-трассер. ДЭГФ является давно известным загрязнителем окружающей среды (см. раздел 2.5.7.) и обладает высокой гидролитической устойчивостью. Его поведение в различных звеньях экосистем хорошо изучено, однако, поведение ДЭГФ в экосистеме оз. Байкал до сих пор никто не исследовал. Это послужило еще одним аргументом в пользу выбора ДЭГФ в качестве трассера.

Мы сочли целесообразным привести ниже краткие данные о ДЭГФ и других диэфирах *орто*-фталевой кислоты, которые необходимы для обсуждения полученных нами результатов.

4.1.4. Эфиры *орто*-фталевой кислоты как загрязнители окружающей среды.

Эфиры *орто*-фталевой кислоты – фталаты – являются продуктами крупнотоннажного органического синтеза и имеют общую формулу



где R, как правило, алифатический углеводородный радикал. В большинстве случаев $R_1=R_2$. Основные физико-химические свойства "главных" фталатов приведены в табл 1.

Общемировое производство фталатов достигло максимума в конце 80-х годов (5 млн. тонн в год). Ежегодное мировое производство ДЭГФ в конце 80-х годов оценивалось в 4 млн. тонн [Vitali et al., 1997]. В Западной Европе ежегодно производится свыше 1 млн. тонн фталатов, из которых 0.9 млн. тонн используются как пластификаторы для поливинилхлорида (ПВХ). Из них примерно 50% приходится на долю ДЭГФ, поскольку он обладает лучшими пластифицирующими свойствами и оптимален по цене [Sharpe, 2000]. Содержание ДЭГФ в ПВХ достигает 40-60% по весу.

Таблица 1. Физико-химические свойства важнейших фталатов.

M - молекулярная масса; $t_{пл}$ - температура плавления; $t_{кип}$ - температура кипения; d - плотность; $P_{пар}$ - давление паров; $S_{вода}$ - растворимость в воде; $K_{O/W}$ - константа распределения в системе "н-октанол/вода"; η - вязкость. Данные взяты из: [Furtmann, 1993] и "Химический энциклопедический словарь". Москва: Советская энциклопедия. 1983. 790 с.

	Диметилфталат $C_{10}H_{10}O_4$	Диэтилфталат $C_{12}H_{14}O_4$	Ди-н-бутилфталат $C_{16}H_{22}O_4$	Бензил-н-бутил- фталат $C_{19}H_{20}O_4$	Ди(2-этилгексил)- фталат $C_{24}H_{38}O_4$	Ди-н-октилфталат $C_{24}H_{38}O_4$	Ди-н-нонилфталат $C_{26}H_{42}O_4$
M	194.2	222.2	278.4	312.4	390.6	390.6	418.6
$t_{пл}, ^\circ C$	0	-40	-35	-40÷ -35	-55÷ -45	-25	-
$t_{кип}, ^\circ C$	282	296÷ 298	340	370÷ 377	370÷ 385	340	413
$d, г/см^3$ (при $^\circ C$)	1.192 (20)	1.123 (25)	1.050 (21)	1.116 (25)	0.983 (20)	0.986 (20)	0.980 (25)
$P_{пар}, Па$ (при $^\circ C$)	<1 (20)	0.053 (25)	0.0097 (25)	0.00083 (25)	0.000019 (25)	0.18 (200)	133 (200)
$S_{вода}$	1.7÷5.0 г/л	0.2÷ 1.5 г/л	0.009÷ 4.5 г/л	2÷100 мг/л	0.023÷ 100 мг/л	3 мг/л	-
$log K_{O/W}$	1.5	1.8	3.8÷ 5.74	4.05÷ 5.8	3.98÷ 9.64	4.3÷ 8.06	-
$\eta, сП$ (20 $^\circ C$)	16.3	12.6	19÷23	55÷65	77÷82	40	113÷ 123

Кроме мощных локальных источников, связанных с производством, существуют огромное число промышленных и муниципальных свалок и мусороперерабатывающих предприятий, являющихся источниками "вторичной" эмиссии фталатов. Число заброшенных свалок в странах Европы составляет 250000, из них 50000 представляют непосредственную опасность для окружающей среды [Castillo et al., 2000]. Из одной тонны бытового мусора в окружающую среду попадает в среднем 1 г фталатов (90% из них – ДЭГФ, 8% приходится на ДБФ) [Bauer et al., 1997]. Бесчисленное количество малых источников выноса фталатов, распределенных без каких-либо пространственных

ограничений, делает задачу количественной оценки масштабов эмиссии фталатов весьма трудной.

Одно из первых таких исследований было предпринято в Канаде в начале 70-х годов [Корте, 1997]. Общее количество произведенных в стране в 1973 г. фталатов составило 27900 т, было импортировано 7700 т, так что общее поступление оценивалось в 35600 т. Из этого количества 98% использовано в качестве пластификаторов. Объем эмиссии в процессе производства оценивался в 710÷1600 т, причем основное количество выделялось при изготовлении полимерной композиции с ПВХ. К этому добавился выброс 137 т фталатов из мусороперерабатывающих установок и 3800 т сбрасывалось при хранении мусора на свалках и при использовании пластиковых изделий. Общая эмиссия фталатов в окружающую среду составила 4640÷5520 т, или до 15,5% от общего количества. Согласно последней модели поведения ДЭГФ в окружающей среде в 2002 г. в Канаде, общая эмиссия этого вещества оценивается уже в 44380 т в год [Woodfine et al., 2002].

Фталаты относят к умеренно токсичным соединениям, и объем исследований в области их токсикологии постоянно растет. Однако в нашу задачу не входит рассмотрение этой сложной и многоплановой проблемы. Мы ограничимся лишь простой и понятной иллюстрацией ее масштаба. Так, поиск в базе данных Национальной медицинской библиотеки Национального института здоровья США (U.S. National Library of Medicine, National Institutes of Health) – <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search> – для ключевого слова "bis(2-ethylhexyl)phthalate", проведенный нами 9 июля 2003 г., дал 2843 названия разного рода публикаций.

4.1.5. О плане изучения поведения ДЭГФ в экосистеме оз. Байкал.

Планирование исследования поведения ДЭГФ в экосистеме оз. Байкал определялось, с одной стороны, географическими особенностями экосистемы, а с другой – физико-химическими свойствами самого ДЭГФ, от которых зависит его поведение в отдельных звеньях водной экосистемы. "Судьба" ДЭГФ в различных объектах окружающей среды изучалась в течение ряда лет многими

исследователями, но в регионе оз. Байкал таких исследований не проводилось.

Получение достаточно полной картины предполагало выявление источников эмиссии ДЭГФ в озеро, определение содержания ДЭГФ в разных частях акватории озера и на разных его глубинах, оценку скорости выведения ДЭГФ из экосистемы (вынос с водами р. Ангара, осаждение на дно на взвешенных частицах, деградация микроорганизмами, биоаккумуляция в биоте). Для выполнения всего комплекса работ предстояло разработать пакет химико-аналитических методик определения ДЭГФ в различных объектах экосистемы и апробировать эти методики на практике. Схема отбора образцов, характерная для такого рода исследований и которая, по нашему мнению, должна была обеспечить необходимый объем данных, приведена на рис. 3.



Рис. 3. Схема исследованного района экосистемы оз. Байкал и мест отбора проб.

● - населенные пункты; * - ледовая станция; — — — — — места отбора проб глубинной байкальской воды; ○ - места отбора проб речной воды (малые реки: 1- р. Утулик, 2- р. Солзан; 3- р. Хара-Мурин; 4- р. Снежная; 5- р. Переёмная; 6- р. Сухая); * - места отбора проб снега.

Расположение точек отбора проб на схеме было обусловлено необходимостью получения следующей информации:

- содержание ДЭГФ в байкальской воде на разных глубинах в Северном, Среднем и Южном Байкале в летнее и зимнее время;
- содержание ДЭГФ в снежном покрове от Иркутска до Байкала для оценки

- количества ДЭГФ, поступающего в Южный Байкал по долине р. Ангара в результате атмосферного переноса;
- содержание ДЭГФ в воде малых рек, берущих начало в горах Хамар-Дабана (количество выпадающих в год осадков превышает 1000 мм [Байкал, Атлас, 1993]), для оценки поступления ДЭГФ из атмосферы в Южный Байкал;
 - содержание ДЭГФ в воде р. Селенга для оценки поступления ДЭГФ из водосборного бассейна этого крупнейшего притока Байкала;
 - содержание ДЭГФ в воде р. Ангара для оценки выносимого из Байкала количества ДЭГФ.

4.2. Определение ДЭГФ в воде.

4.2.1. Методические проблемы определения ДЭГФ на уровне фоновых концентраций.

При определении фталатов особенно остро стоит проблема устранения источников возможного загрязнения пробы. Фталаты входят в состав многих полимерных материалов, из которых изготовлены детали лабораторного оборудования и мебели, покрытие пола, тара и упаковка, пробки и т.д. [Furtmann, 1993; Giam et al., 1984; McDowell, 1997]. В результате "лабораторная среда" обеспечивает постоянный "фон" фталатов, что диктует особые требования к применяемой лабораторной посуде и проведению всех манипуляций с образцом.

Только в середине 80-х годов аналитики стали обращать внимание на возможность загрязнения пробы в ходе анализа и принимать специальные меры для устранения таких ошибок. Возможно, некоторые из ранних данных значительно завышены [Staples et al., 2000].

Общий принцип при подготовке посуды для анализа состоит в том, что нужно быть уверенным, что выбранная процедура не создает проблем больше, чем решает [McDowell, 1997].

Для фталатов, кроме "вторичного" загрязнения проб при отборе и хранении, существует опасность сорбции на стенках посуды. Показано, что потери в результате сорбции при хранении раствора БЭГФ с концентрацией

1 мкг/л могут составлять более 25% [Furtmann, 1993]. Предлагаются специальные приемы обработки посуды: после обычного мытья с применением детергентов посуду нагревают до 400°C в течение 3.5 ч, затем охлаждают в закрытой печи в течение 12 ч и деактивируют с помощью 2,2,4-триметилпентана. Очевидно, такой способ нельзя считать универсальным: несмотря на все предпринятые меры, риск загрязнения посуды в результате контакта с воздухом и органическим растворителем остается.

Не удастся снять проблему "вторичного" загрязнения и после промывки стеклянной посуды ацетоном марки "For HPLC" и этилацетатом с применением ультразвуковой ванны и последующей сушки при 150°C [Cortazar et al., 2002].

Промывка стеклянной посуды этанолом, затем водой, очищенной на установке "Milli-Q" (Millipore, США) и прогрев в течение 20 ч при 450°C также не позволили избавиться от "фоновых" концентраций фталатов [Jonsson et al., 2003]. Эти же авторы для удаления фталатов выдерживали стеклянную посуду 6 ч в 3 М NaOH, затем промывали очищенной (Milli-Q) водой и закрывали алюминиевой фольгой. Несмотря на принятые меры, содержание ДБФ и ДЭГФ в холостых пробах удалось снизить лишь до 1.6 и 1.1 мкг/л соответственно. Это не позволяет работать с "чистыми" пробами воды, где концентрации фталатов составляют 0.1÷1.0 мкг/л.

Как правило, в органических растворителях, не подвергавшихся специальной очистке, может содержаться довольно значительное количество фталатов. Так, в дихлорметане было найдено 20 мг/л, а в пентане – 78 мкг/л ДЭГФ [Furtmann, 1993]. Путем перегонки очистить растворители от фталатов до требуемого уровня обычно не удается. Более того, в перегнанном растворителе в результате десорбции ДЭГФ с поверхности системы для перегонки иногда обнаруживается более высокая его концентрация, чем в исходном.

Некоторые авторы, не уделяя особого внимания очистке растворителей и посуды, предпочитают просто делать холостые пробы [Holadova et al., 1995]. При анализе объектов, где концентрация фталатов составляет менее 1 мкг/л, фоновые значения могут быть сопоставимы с определяемыми [Cortazar et al., 2002].

Для минимизации риска вторичного загрязнения образцов фталатами коллективными усилиями многих исследователей [Bauer et al., 1997; Furtmann, 1993; Giam et al., 1984; Petrovic et al., 2001; Vitali et al., 1997] выработан длинный перечень рекомендаций, который предусматривает следующее:

- увеличивать количество образца для лучшего соотношения сигнал/фон;
- уменьшить количество органических растворителей при экстракции;
- не использовать роторный испаритель;
- для отгонки растворителя использовать азот;
- максимально уменьшить число операций при подготовке пробы;
- избегать переноса пробы в другую посуду;
- использовать только стеклянную посуду;
- применять только растворители марки "Для анализа следовых количеств";
- отбирать растворитель исключительно путем выливания;
- анализировать все вновь применяемые материалы;
- обрабатывать пробы как можно быстрее после отбора;
- хранить фталаты и их концентрированные растворы в отдельном помещении;
- не использовать при отборе проб защитные перчатки, т.к. они могут содержать фталаты;
- в каждой серии экспериментов необходимо анализировать холостые пробы и вычитать полученные для них значения концентрации фталатов при расчетах.

Учитывая этот внушительный "список опасностей", мы при разработке методик анализа ДЭГФ в различных объектах постарались максимально сократить число вспомогательных операций и стадий. В качестве метода определения ДЭГФ была выбрана обращенно-фазовая ВЭЖХ на коротких колонках малого объема (2x75 мм; свободный объем около 0.18 мкл), которые по сравнению с "традиционными" колонками (4.6x150-250 мм, свободный объем 1.9-3.2 мл) позволяют увеличить отношение сигнал/шум в 10-15 раз [Baram, 1996]. Заполненные сорбентом с размером частиц 5 мкм, такие колонки показывают эффективность около 5000 теоретических тарелок, что обеспечивает достаточное разрешение пика ДЭГФ с его ближайшими коммерчески доступными гомологами (ди-*n*-октилфталат и ди-*n*-нонилфталат), которые

принципиально могут присутствовать в природных объектах (см. рис. 4А).

Все фталаты имеют одинаковые УФ спектры поглощения, определяемые их общим хромофором – остатком *орто*-фталевой кислоты. Исключение составляют лишь те немногие фталаты, которые содержат поглощающий УФ излучение остаток спирта (рис. 4Б). Для достижения максимальной чувствительности анализа регистрацию поглощения элюата целесообразно проводить при $\lambda=200$ нм. В области более коротких длин волн регистрации заметно мешает поглощение элюента. Все фталаты имеют характерное спектральное отношение $A_{210}/A_{200}=0.35$. При двухволновом детектировании эту характеристику можно использовать для более надежной идентификации пиков фталатов на хроматограмме.

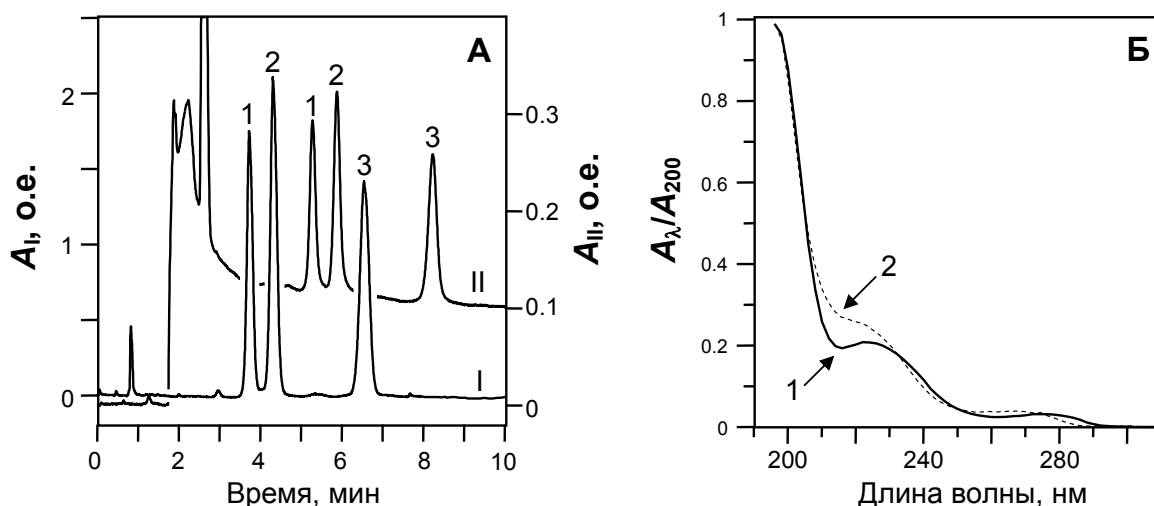


Рис. 4. Разделение фталатов (А) и их УФ спектры (Б)
[Барам, Азарова и др., 2000].

Колонка 2x75 мм с Nucleosil 100-5 C₁₈; элюент: CH₃CN-H₂O (90:10); скорость потока 0.2 мл/мин; детекция при $\lambda=200$ нм; температура +50⁰С.

Образцы: **I**- 2 мкл раствора фталатов (каждого по 500 мг/л) в MeOH; **II**- 10 мл раствора фталатов (каждого по 20 мкг/л) в H₂O; **1**- ДЭГФ; **2**- ди-*n*-октилфталат; **3**- ди-*n*-нонилфталат. Спектры записывали во время хроматографирования после остановки потока вблизи максимумов соответствующих пиков; 1- спектры ДЭГФ, ди-*n*-октилфталата, ди-*n*-нонилфталата; 2- спектр *n*-бутилбензилфталата.

Как видно из рис. 4А, высота пика, соответствующего 1 мкг ДЭГФ, составляет $A_{200} \approx 2$ о.е. Отсюда следует, что для использованного нами хроматографа "Милихром А-02", амплитуда шума детектора которого при $\lambda=200$ нм составляла около 0.0004 о.е., предел обнаружения ДЭГФ был равен

примерно 1 нг/пик при отношении "сигнал/шум" \approx 3. Простой расчет дает соотношение между концентрацией ДЭГФ и объемом пробы, которую надо ввести в колонку, чтобы получить хроматографический пик ДЭГФ на уровне предела его обнаружения (табл. 2).

Так как фоновое содержание ДЭГФ в природных водах составляет около 0.1 мкг/л, то для работы на этом уровне необходимо решить проблему концентрирования пробы, объем которой должен быть не менее 10 мл.

Таблица 2. Объем раствора, содержащего 1 нг вещества, в зависимости от концентрации этого вещества в растворе.

Концентрация вещества, мкг/л	Объем раствора, содержащего 1 нг вещества, мл
10	0.1
1	1
0.1	10
0.01	100

4.2.2. Концентрирование ДЭГФ методом ТФЭ и непосредственно на аналитической колонке.

Концентрирование ДЭГФ из водных растворов можно осуществить экстракцией органическими растворителями (гексан, толуол, хлористый метилен, диэтиловый эфир, этилацетат), которые дают примерно одинаковую степень извлечения (80-95%) [Jonsson et al., 2002], но опасность "вторичного загрязнения" образца при жидко-жидкостной экстракции (ЖЖЭ) весьма велика. Органические растворители трудно очищаются от следов фталатов и быстро ими загрязняются в лабораторных условиях. Применение ЖЖЭ целесообразно лишь в тех случаях, когда объем пробы воды слишком велик (более 1 л) и альтернативный метод концентрирования – твердофазная экстракция – занимает много времени.

Твердофазная экстракция (ТФЭ) и микро-ТФЭ (МТФЭ) в настоящее время являются, пожалуй, самыми распространенными способами очистки и

концентрирования образцов перед хроматографическим анализом. Основные преимущества ТФЭ: селективность, возможность автоматизации процесса, существенно меньший расход органических растворителей, меньшая трудоемкость, возможность обработки одновременно нескольких проб, возможность проведения подготовки проб сразу после отбора и транспортировки в лабораторию картриджей вместо больших объемов воды.

При определении фталатов в воде довольно часто применяются ТФЭ [Brossa et al., 2002; Castillo et al., 2000; Jara et al., 2000; Jonsson et al., 2002;] и МТФЭ [Cortazar et al., 2002; Luks-Betlej et al., 2001; Penalver et al., 2000 and 2001; Prokupková et al., 2002], но все авторы отмечают опасность вторичного загрязнения пробы фталатами, следовые количества которых содержатся в органических растворителях, лабораторном воздухе, в полимерных материалах, из которых изготавливаются картриджи, а также в самих сорбентах, особенно в сшитых полистиролах. Очевидно, что опасность вторичного загрязнения можно снизить путем миниатюризации картриджей для ТФЭ, перехода к ТФЭ на дисках или к МТФЭ на волокнах. Однако делать это надо осторожно, т.к. емкость микрокартриджей, дисков и волоконных сорбентов может оказаться недостаточно высокой для полной адсорбции вещества-аналита из раствора.

Еще один недостаток ТФЭ связан с тем, что в большинстве картриджей для ТФЭ используется крупнозернистые сорбенты (40-50 мкм), которые при высоких скоростях потока допускают проскок вещества через картридж.

Для ускорения процедуры ТФЭ и уменьшения риска вторичного загрязнения пробы фталатами совместно с А.Л. Верещагиным и А.Г. Горшковым мы разработали картридж собственной конструкции (см. рис. 1), который отличался от прототипа – коммерчески доступного картриджа BAKERBOND spe Octadecyl (3 мл, 500 мг) – тем, что количество сорбента было уменьшено с 500 до 50 мг, его зернистость – с 40-50 до 15 мкм, высота слоя сорбента – с 10 до 2 мм, а материал фильтров (пористый фторопласт) был заменен на пористую нержавеющую сталь.

Поскольку в случае фталатов трудно контролировать влияние "лабораторного фона", оптимизацию процедуры концентрирования проводили с

помощью модельного водного раствора нафталина (32 мг/л), содержащего 15% изопропанола для предотвращения сорбции на стенках посуды и оборудования.

Полную емкость картриджа с фазой Silasorb C₁₈ (LC) оценивали по сорбции нафталина двумя способами.

1. В картридж вводили 50 мл раствора нафталина со скоростью 7 мл/мин, затем картридж сушили, элюировали нафталин ацетонитрилом (5x2 мл), доводили объем элюата ацетонитрилом до 25 мл, определяли концентрацию нафталина в полученном растворе ВЭЖХ и вычисляли количество элюированного нафталина.

2. В картридж вводили раствор нафталина со скоростью 2 мл/мин и регистрировали поглощение элюата при $\lambda=220$ нм для определения проскока.

В обоих случаях сорбционная емкость картриджа с фазой Silasorb C₁₈ (LC) составила 530 мкг нафталина.

Эксперименты с модельными водными растворами шести фталатов, показали, что при ТФЭ как на серийных, так и на экспериментальных картриджах практически невозможно избавиться от "лабораторного фона", который недопустимо "завышает" определяемые концентрации ДЭГФ и ДБФ, особенно на уровне 1 мкг/л и ниже. ДМФ и ДЭФ из-за низкого значения k' на обращенной фазе C₁₈ не концентрируются. Результаты испытаний картриджей с Silasorb C₁₈ (LC) приведены в табл. 3.

Таблица 3. Средние значения степени извлечения основных фталатов из модельных водных растворов (%) методом ТФЭ ($n=5$).

Фталаты:	ДМФ	ДЭФ	ББФ	ДБФ	ДЭГФ	ДОФ
10 мкг/л	11	17	55	107	110	84
1 мкг/л	-	-	-	-	216	-

Для извлечения фталатов из воды нами также были исследованы возможности методов "классической" жидкостной экстракции гексаном и жидкостной "микроэкстракции", описанной в работе [Holadova et al., 1995]. Несмотря на меры, принятые для устранения источников "вторичного загрязнения", нам не удалось получить хорошую воспроизводимость на уровне

концентраций 1 мкг/л.

Как мы в результате убедились на практике, в случае с фталатами практически единственным способом избежать "вторичного загрязнения" водной пробы является прямой ввод ее в аналитическую колонку или в предколонку, если таковая предусмотрена. Благодаря своей высокой гидрофобности, ДЭГФ адсорбируется на фазе C_{18} даже при вводе значительных объемов водных растворов только в самой верхней части колонки. При элюировании его пик остается таким же узким, как и при вводе проб малого объема [Исии, 1991; Ваган, 1996], т.е. эффективность колонки не уменьшается.

Однако, концентрирование ДЭГФ непосредственно на аналитической колонке (или на предколонке) имеет два заметных недостатка.

1. Ввод проб большого объема занимает довольно много времени, и это значительно увеличивает продолжительность всего анализа. Время анализа можно сократить, если снабдить хроматограф несколькими насосами, несколькими колонками и устройством-коммутатором. В этом случае, пока на одной колонке проводится анализ, в остальные колонки вводятся пробы. Очевидно, что такой специализированный хроматограф целесообразно использовать лишь при необходимости анализа большого числа образцов.
2. Срок жизни колонок с обращенными фазами на основе силикагеля заметно сокращается из-за растворения силикагельной основы при длительном контакте с водой. Этот недостаток можно преодолеть частично, если вводить в колонку пробу минимально допустимого объема при малом отношении "сигнал/шум", или полностью, если использовать колонку с гидrolитически устойчивой ОФ на полимерной основе (например, на основе сшитого полистирола). Еще одним методическим приемом продления срока службы колонки является применение предколонки, цена которой обычно заметно ниже цены аналитической колонки. Для того, чтобы "сохранить" аналитическую колонку, предколонку во время ввода образца отключают от аналитической колонки с помощью дополнительного крана. Следует отметить, что переключаемые предколонки в микроколоночной ВЭЖХ имеют ограниченное применение, т.к. увеличение длины и объема

соединительных капилляров приводит к существенному уменьшению наблюдаемой эффективности колонки из-за дополнительного внеколоночного уширения хроматографических пиков на хроматограмме.

Тем не менее, если рассматривать всю аналитическую процедуру в целом, а не только ее "хроматографическую" часть, то даже в случае использования одноколоночного хроматографа с обычной ОФ колонкой (без предколонки), эти два недостатка не кажутся критическими, и прямой ввод водной пробы в аналитическую колонку представляется вполне приемлемым решением проблемы определения ДЭГФ в воде на уровне концентрации 1 мкг/л и ниже.

Важно иметь в виду, что из обширного ассортимента коммерчески доступных обращенных фаз далеко не все могут быть использованы для определения ДЭГФ в разбавленных водных растворах из-за эффекта "коллапса", при котором колонка перестает сорбировать вещества. Это явление хорошо изучено [Nagae et al., 2002; Przybyciel et al., 2002], и оно характерно для октадецильных ОФ с высокой плотностью прививки радикалов C_{18} или для ОФ с полимерной прививкой радикалов C_{18} . При высоком содержании воды в элюенте радикалы C_{18} в силу своей гидрофобности "выталкиваются" из элюента и, если их количество на единицу площади поверхности велико, происходит самоассоциация радикалов или "внутреннее расслоение фаз".

Предварительную проверку имеющихся в нашем распоряжении восьми ОФ на "коллапс" в воде проводили как описано в разделе 3.3.5. Хроматограммы представлены на рис. 5. Эта проверка является "мягкой", т.к. перед вводом пробы колонки промывали всего 1 мл 2% водного раствора ацетонитрила. Как видно из хроматограмм, мономерные фазы с высокой плотностью прививки Kromasil C_4 , C_8 и C_{18} в этих условиях "коллапсировали" сильно, полимерная фаза Nucleosil- C_{18} АВ – в меньшей степени (но заметно), а остальные сорбенты проверку выдержали. Далее в работе мы использовали ОФ Nucleosil 100-5 C_{18} и Silasorb SPH C_{18} (5 мкм). Как показало тестирование на водных растворах ДЭГФ, они не "коллапсировали" даже при объеме вводимой пробы до 50 мл.

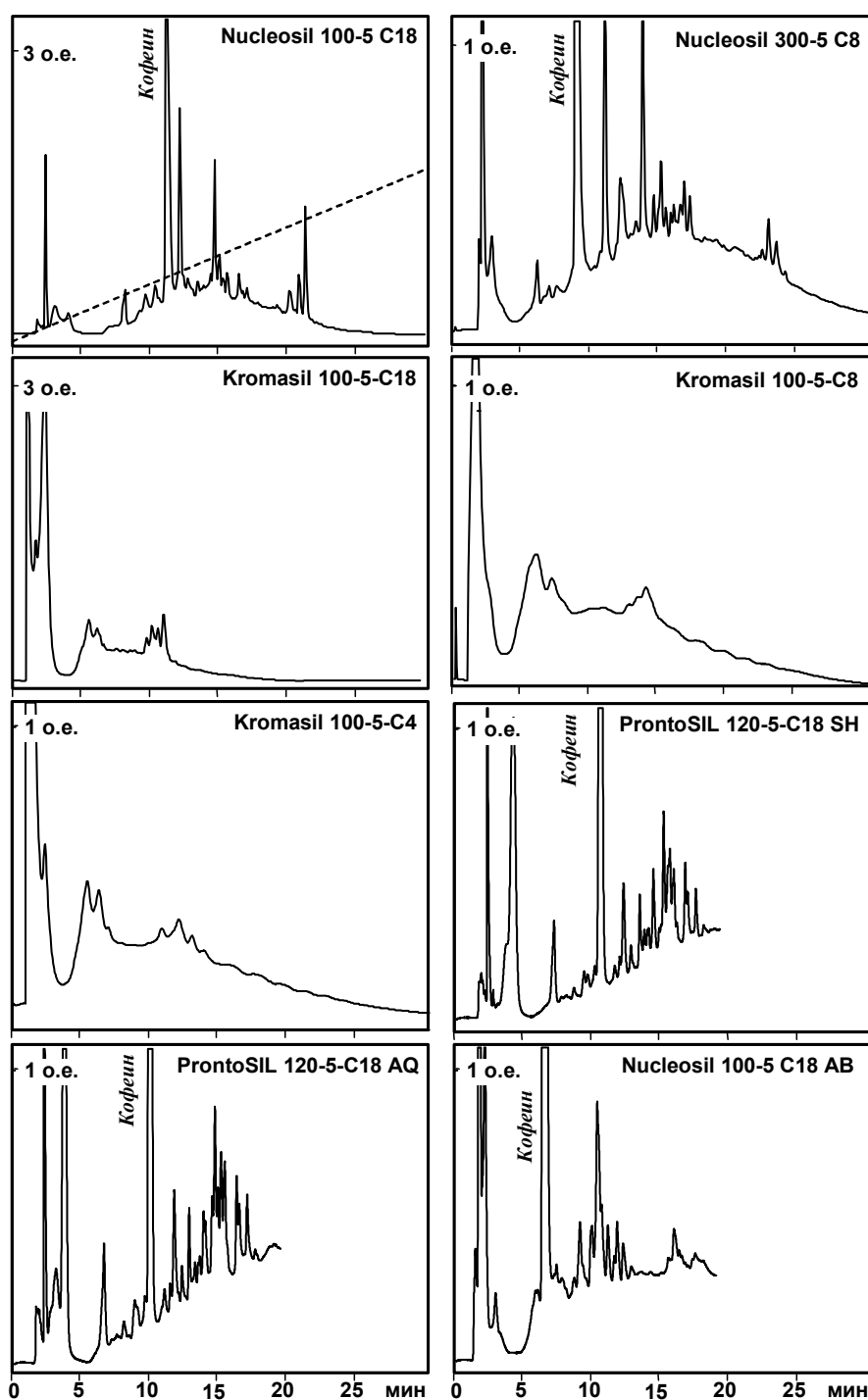


Рис. 5. Проверка обращенных фаз на "коллапс" в элюенте с 98% H₂O.

Выполняя определение ДЭГФ в воде, мы вводили пробы воды объемом до 10 мл с помощью насоса "А" самого хроматографа "Милюхром А-02" порциями по 2 мл в автоматическом режиме с последующим элюированием раствором из насоса "Б" (рис. 6-I). Для ввода проб объемом до 50 мл применяли отдельный насос, который подсоединяли к инжектору хроматографа (рис. 6-II).

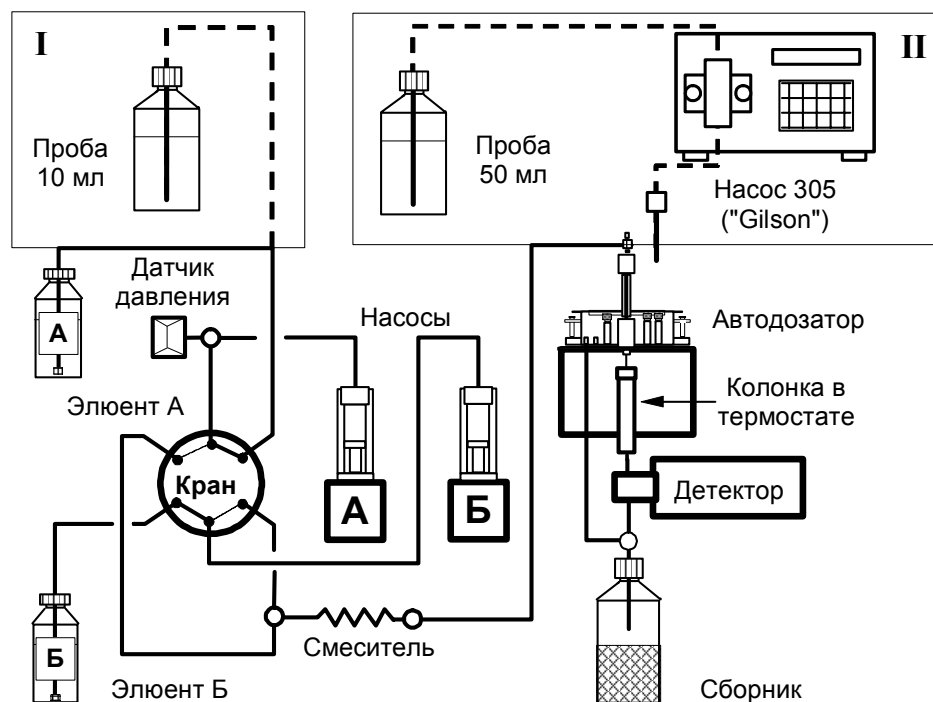


Рис. 6. Схема хроматографа "Милихром А-02" и способы ввода проб воды большого объема.

I- ввод пробы с помощью насоса "А". II- ввод пробы с помощью дополнительного насоса.

4.2.3. Определение ДЭГФ в байкальской воде.

Озерная вода является, без сомнения, главным компонентом экосистемы Байкала. Огромные размеры озера и его водосборного бассейна приводят к тому, что, в отличие от воды малых водоемов, при определении содержания веществ, концентрация которых составляет менее нескольких мкг/л, байкальская вода не может рассматриваться как однородный объект исследования [Грачев, 2002]. Причины концентрационных неоднородностей обусловлены особенностями течений, климатом, временными изменениями количества веществ, вносимых в экосистему через атмосферу и главные притоки.

Для определения ДЭГФ методом ОФ ВЭЖХ байкальская вода представляется весьма удобным объектом изучения. Малое содержание взвешенных частиц и микроорганизмов позволяет вводить в колонку пробы воды большого объема без предварительного фильтрования.

Примеры хроматограмм, полученных после ввода в колонку больших объемов воды показаны на рис. 7. Исключение процедуры фильтрования,

которая обязательна при анализе большинства поверхностных вод, позволило, с одной стороны, определить общее содержание ДЭГФ (растворенного и адсорбированного на частицах), а с другой – минимизировать возможность вторичного загрязнения пробы. Практика показала, что без предварительного фильтрования через колонку можно пропустить до 500-1000 мл глубинной байкальской воды, после чего необходима замена входного фильтра.

Доказательством того, что в образце **I** на рис. 7 **А** и **Б** содержание ДЭГФ действительно было мало (<0.2 мкг/л), и это не явилось следствием проскока ДЭГФ через колонку в результате "коллапса" обращенной фазы, послужил опыт с добавкой ДЭГФ (хроматограмма **II**). Площадь пика ДЭГФ на хроматограмме **II** соответствует расчетной.

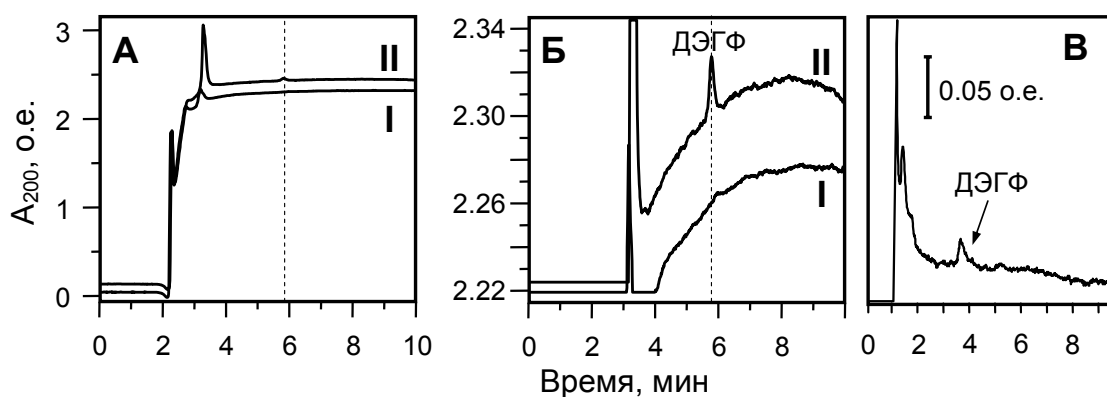


Рис. 7. Определение ДЭГФ в байкальской воде.

А и **Б**- хроматограммы воды без добавки (**I**) и с добавкой ДЭГФ (**II**).

В- хроматограмма воды (объем образца 50 мл).

Колонки 2x75 мм Nucleosil 100-5 C_{18} (**А** и **Б**) и Silasorb SPH- C_{18} , 5 мкм (**В**); элюент: MeOH- H_2O (90:10); скорость потока 0.2 мл/мин; температура $+50^{\circ}C$.

Образцы: **I**- 10 мл байкальской воды (Южный Байкал, глубина 1000 м, апрель 2001 г.); **II**- образец **I** с добавкой ДЭГФ до концентрации 1 мкг/л; **В**- 50 мл воды (Южный Байкал, глубина 500 м, июль 2002 г., концентрация ДЭГФ 0.29 ± 0.02 мкг/л).

Необходимым условием для осуществления такого расчета является установление калибровочной зависимости площади пика ДЭГФ (S^{200}) от его количества в пике ($Q_{\text{ДЭГФ}}$). В нашем случае эта зависимость была линейной в диапазоне от 0 до 400 нг ДЭГФ в пике и выражалась уравнением $S^{200} = 0.023Q_{\text{ДЭГФ}}$ (рис. 8). Расчетная площадь пика ДЭГФ, соответствующая 10 нг

(10 мл, 1 мкг/л), составляет 0.230 о.е.*сек; площадь пика на хроматограмме I (рис. 7) составила 0.043 о.е.*сек; после добавки ДЭГФ площадь пика увеличилась до 0.295 о.е.*сек. Таким образом, полученное приращение площади пика 0.252 о.е.*сек, составляющее 110% от расчетного, является доказательством отсутствия коллапса ОФ при вводе в колонку 10 мл водного раствора.

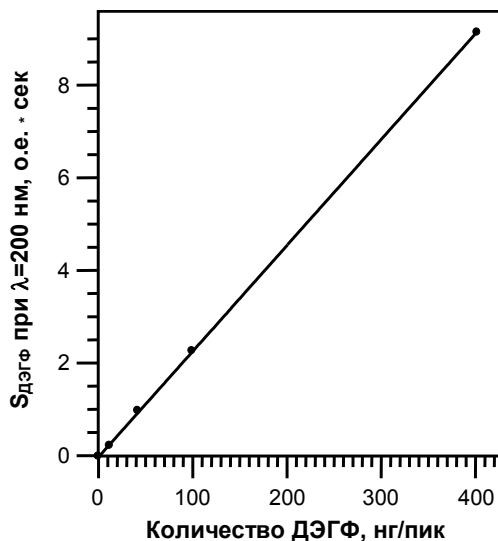


Рис. 8. Калибровочная зависимость для ДЭГФ.

Колонка 2x75 мм Nucleosil 100-5 C₁₈. Элюент: MeOH-H₂O (90:10); F=0.2 мл/мин; t=+50⁰C; длина волны λ=200 нм. Образцы: по 5 мкл растворов ДЭГФ в метаноле с концентрациями 2, 8, 20 и 80 мкг/мл. Коэффициент корреляции 0.998.

Необходимо отметить, что прототип этой методики определения ДЭГФ в байкальской воде был описан в работе [Baran et al., 1997], но ее авторы не исследовали возможность "коллапса" примененной ими обращенной фазы (Баран Г.И. – персональное сообщение). В связи с этим полученные ими данные по уровню концентрации ДЭГФ могли быть заниженными.

Скорость ввода пробы в колонку начинала заметно влиять на ее эффективность, начиная с величины 1 мл/мин. Увеличение скорости потока с 0.5 до 1 мл/мин увеличивало высоту теоретической тарелки не более чем на 25%.

Несмотря на внешнюю простоту методики определения ДЭГФ в байкальской воде, правильные и воспроизводимые результаты можно получить только при соблюдении целого ряда условий, выполнение которых необходимо для предотвращения (или минимизации) возможного загрязнения проб воды

"посторонним" ДЭГФ. Среди таких условий главным, очевидно, должно быть предварительное выявление источников "постороннего" ДЭГФ и исключение их из полной аналитической процедуры. Ниже мы приводим несколько примеров изучения объектов возможной эмиссии ДЭГФ, которые способны загрязнить анализируемую воду.

Образцы глубинной воды поднимают на поверхность с помощью тросовой лебедки в специальных цилиндрических сосудах-батометрах, снабженных верхней и нижней крышками, которые герметично закрываются после удара свободно скользящего по тросу груза-бегунка, отпускаемого исследователем после достижения батометром заданной глубины. Проба воды поднимается с глубины 1000 м в течение примерно 1 ч. За это время возможно ее загрязнение ДЭГФ, если он присутствует в материалах, из которых изготовлены узлы батометра. На рис. 9 приведены результаты проверки на пригодность двух батометров, из которых совершенно ясно, что батометр с пластиковыми деталями для отбора проб воды, предназначенных для определения ДЭГФ, использован быть не может.

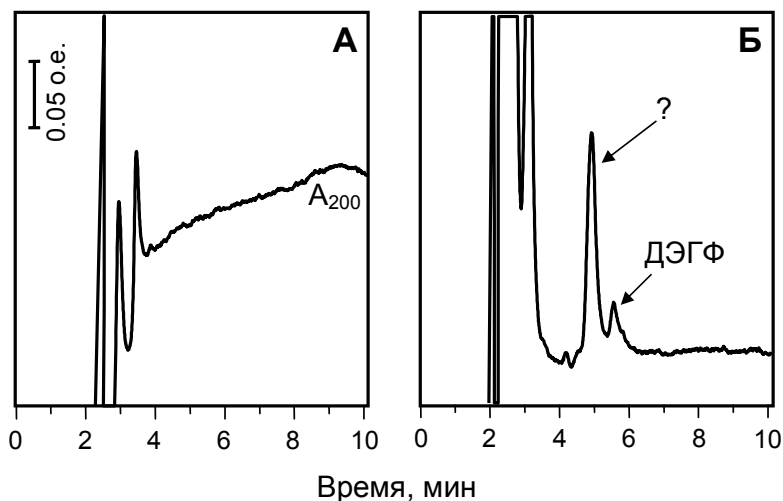


Рис.9. Проверка пригодности батометров для определения ДЭГФ в глубинной байкальской воде.

Колонка 2x75 мм с Nucleosil 100-5 C₁₈; элюент MeOH-H₂O (90:10); скорость потока 0.2 мл/мин; температура +50⁰С. Образцы: по 10 мл воды, выдержанной в батометрах в течение часа.

А- батометр (1 л) из нержавеющей стали без резиновых и пластмассовых деталей. **Б-** батометр из титана (10 л) с пластиковыми торцевыми стенками и резиновыми уплотняющими прокладками.

Мы уже отмечали, что основное количество производимого в мире ДЭГФ применяется для пластифицирования поливинилхлорида. Поэтому в лабораторном помещении, где проводится определение ДЭГФ, количество изготовленных из ПВХ предметов желательно свести к минимуму. На рис. 10 приведены результаты анализа двух различных образцов ПВХ, отличающихся по цвету и твердости. Оба они содержали около 10% ДЭГФ.

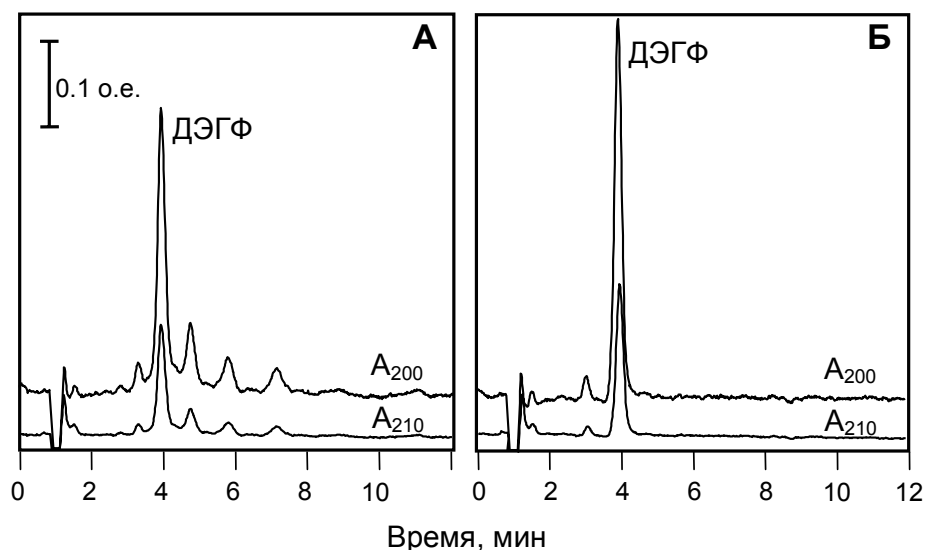


Рис. 10. Определение ДЭГФ в двух образцах (А и Б) поливинилхлорида.

Колонка: 2x75 мм с Nucleosil 100-5 C₁₈; элюент: MeOH-H₂O (90:10); скорость потока 0.2 мл/мин; температура +40⁰С. Образцы: по 2 мкл.

В Главе 3. приводятся методики определения содержания ДЭГФ в смазке троса лебедки, в лабораторном воздухе и в материалах картриджей для ТФЭ. Эти объекты также проверялись как источники вероятной эмиссии ДЭГФ. Так, содержание ДЭГФ в воздухе нашей лаборатории составило примерно 300 нг/м³ [Барам, Азарова и др., 2000]. Содержание ДЭГФ в смазке троса гидрологической лебедки было менее 0.2 мкг на 1 м троса.

Последним и одним из самых важных источников погрешности получаемых значений концентрации ДЭГФ в воде на уровне 1 мкг/л, является посуда, в которой хранится проба воды. Это обстоятельство отмечается практически всеми авторами, которые специально исследовали источники погрешности определения фталатов на уровне фоновых концентраций [Furtmann, 1993; Giam et al., 1984]. Если стеклянная посуда отмыта недостаточно

хорошо (посуду из пластмасс использовать нельзя), то в процессе хранения пробы концентрация фталатов увеличивается, если посуда отмыта полностью, то во время хранения фталаты сорбируются на стенках, и концентрация их уменьшается. Наши исследования показали, что хранение воды, содержащей 1 мкг/л ДЭГФ, в течение одних суток приводит к изменению концентрации ДЭГФ на 10-20%.

Для того, чтобы исключить влияние посуды на правильность результатов анализа, мы хранили пробы байкальской воды не более 5 ч и проводили анализы непосредственно в корабельной лаборатории [Барам, Азарова и др., 2000].

Метрологические характеристики разработанной нами методики определения ДЭГФ приведены в табл. 4. Их оценивали на образцах сравнения, полученных добавлением к очищенной от фталатов воде метанольных растворов ДЭГФ и на реальных водных пробах. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии значимых систематических погрешностей. При концентрации ДЭГФ 0.3 мкг/л и отношении сигнал/шум=10 $s_r=0.2$.

Таблица 4. Правильность и воспроизводимость методики определения ДЭГФ в пробах воды ($n=12$, $P=0.95$). Объем пробы воды 10 мл. Элюент – метанол:вода (90:10) [Барам, Азарова и др., 2000].

Введено, мкг/л	Найдено, мкг/л	s_r
200	202±2	0.02
100	99±2	0.02
50	51±1	0.03
10	10.2±0.4	0.06
1	0.97±0.08	0.13
0.5	0.49±0.05	0.16

Определение концентрации ДЭГФ в байкальской воде показало, что концентрационные профили имеют весьма сложную форму, которую можно интерпретировать лишь учитывая механизмы перемешивания воды в озере и пути попадания ДЭГФ в Байкал. Ранее по форме вертикальных профилей концентрации фреона в байкальской воде (средняя концентрация менее 1 нг/л) в

работе [Weiss et al., 1991] был оценен возраст вод Байкала на разных глубинах. Эта оценка была сделана на основании информации об изменении концентрации фреона в атмосфере, откуда он попадает в озеро, наблюдаемом за последние годы.

Сравнение профилей концентрации ДЭГФ, полученных в 1996 и 2002 годах (рис. 11), показывает, что за шесть лет средняя концентрация ДЭГФ уменьшилась не менее, чем в 4 раза (с 0.8 до 0.2 мкг/л). Это вполне коррелирует с уменьшением объемов мирового производства ДЭГФ с 4 млн. тонн в год в конце 80-х годов [Vitali et al., 1997] до 1.35 млн. тонн в 1995 г. [Jones et al., 1999].

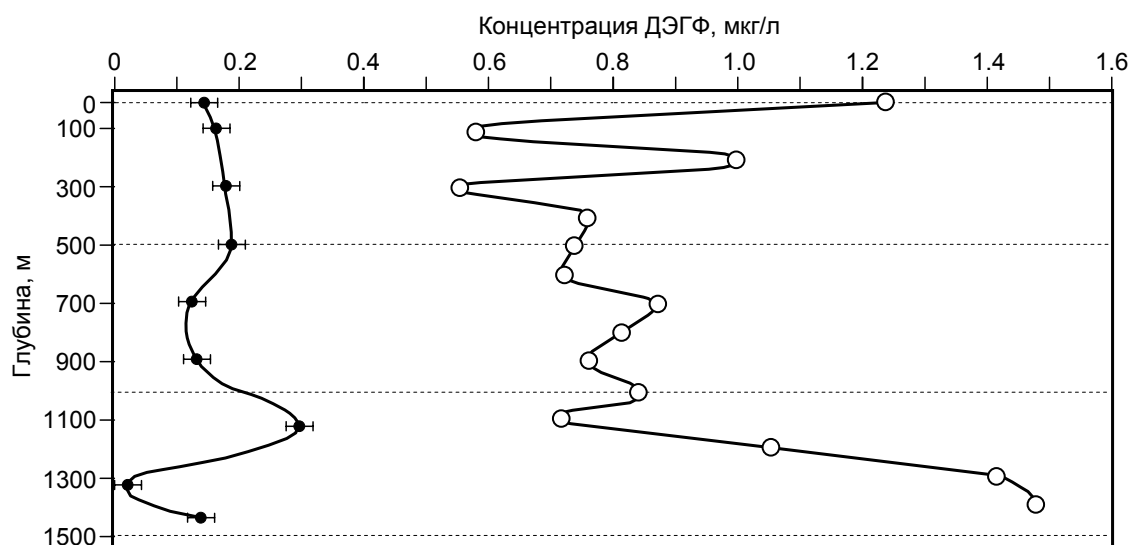


Рис. 11. Глубинные профили концентрации ДЭГФ в Южном Байкале.

● – июль 2002 г.; ○ – сентябрь 1996 г. [Varan et al., 1997].

Следует также отметить, что с 1996 г. полностью прекращено производство ДЭГФ на заводе Ангарской Нефтехимической Компании (г. Ангарск расположен в 110 км от Байкала на берегу р. Ангара), который являлся ближайшим потенциальным крупным локальным источником эмиссии ДЭГФ в окружающую среду.

Концентрация ДЭГФ, найденная в 2002 г. в водах Северного и Среднего Байкала (см. табл. 5) по своим значениям близка к величинам, полученным для вод Южного Байкала.

Таблица 5. Результаты определения ДЭГФ в воде оз. Байкал, полученные в условиях корабельной лаборатории (научно-исследовательское судно "Титов") в июле 2002 г. (n=2).

Район отбора проб	Глубина, м	$C_{\text{ДЭГФ}}$, мкг/л
Северный Байкал (мыс Заворотный)	0	0.18±0.02
	500	0.29±0.02
	900	0.24±0.02
Средний Байкал (мыс Ижимей)	0	0.09±0.02
	500	0.19±0.02
	1000	0.19±0.02
	1600	0.20±0.02

При определении ДЭГФ в байкальской воде по нашей методике, кроме ДЭГФ, мы практически не видим на хроматограмме пиков других поглощающих при $\lambda=200-210$ нм веществ, за исключением тех, что элюируются почти в свободном объеме в виде группы больших плохо разделенных пиков (см. рис. 7). Самый большой из них соответствует пику кислорода, который имеет заметное поглощение при $\lambda=200$ нм, довольно хорошо удерживается на обращенных фазах [Барам и др., 1999], и концентрация которого в байкальской воде составляет 5-10 мг/л. Вероятно, очень большой пик кислорода маскирует собой другие вещества и, в частности, ДБФ, который всегда присутствует в природных водах наряду с ДЭГФ [Furtmann, 1993; Giam et.al., 1984].

Мы сознательно не удаляли растворенный в воде кислород с помощью известных процедур (нагревание, обработка ультразвуком, барботирование гелием), т.к. любая из них могла бы привести к вторичному загрязнению пробы ДЭГФ. Для того, чтобы кислород не выделялся в виде пузырьков в ячейке детектора, в ней создавалось избыточное давление (0.15-0.2 МПа) с помощью специального клапана, присоединенного к выходному капилляру.

О том, что большой пик кислорода может маскировать малый пик ДБФ в условиях нашей методики, свидетельствует хроматограмма на рис. 12 А. После кипячения модельного раствора пик кислорода на хроматограмме исчезает (рис. 12 Б).

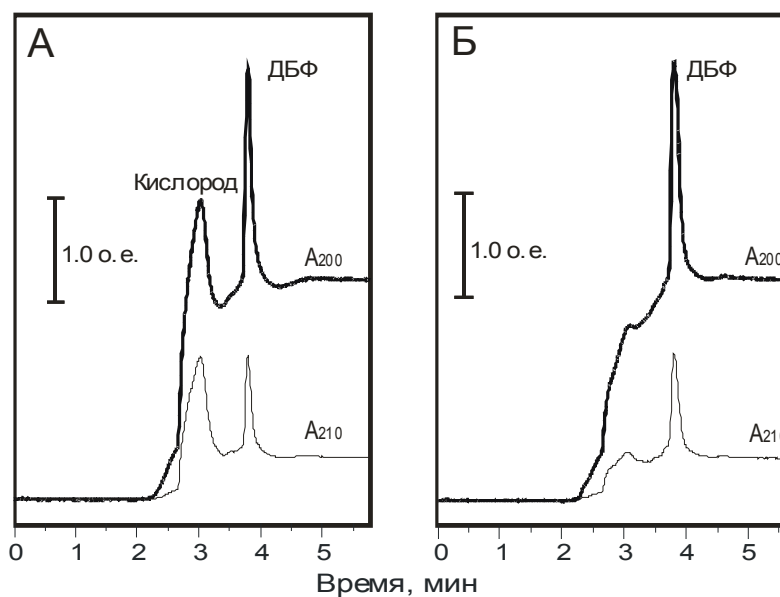


Рис. 12. Хроматограммы дистиллированной воды с добавкой ди-*n*-бутилфталата до кипячения (А) и после (Б).

Колонка 2x75 мм с Silasorb SPH-C₁₈ (5 мкм); элюент: MeOH-H₂O (90:10); скорость потока 0.2 мл/мин; температура +50°C. Образец: 10 мл дистиллированной воды с ДБФ (30 мкг/л).

4.2.4. Определение ДЭГФ в притоках озера Байкал и в р. Ангара.

Определение ДЭГФ в воде притоков Байкала проводилось для выявления значимых источников эмиссии ДЭГФ, обеспечивающих его поступление в озеро из водосборного бассейна. Места отбора проб воды выбирались из тех соображений, что малые притоки Южного Байкала находятся в районе, где выпадает наибольшее количество осадков, а р. Селенга является крупнейшим притоком Байкала.

ДЭГФ определяли в речных водах по той же методике, что и в байкальской воде. Некоторые проблемы возникли только при работе с водой из р. Селенга, которая содержала до 50 мг/л взвешенных частиц. Тем не менее, нам удалось выполнить 5-10 определений ДЭГФ без замены входного фильтра, и предварительное фильтрование воды мы не проводили. Результаты анализов суммированы в табл. 6.

Содержание ДЭГФ во взвеси из селенгинской воды составило 1.5 ± 0.6 мкг/г ($n=4$), что соответствует примерно 50% его общего количества и

согласуется с оценками, приведенными в работе [Furtmann, 1993].

Таблица 6. Результаты определения ДЭГФ в образцах воды из разных участков экосистемы озера Байкал, полученные в условиях полевой лаборатории в 2001 г.

Дата	Район отбора проб	Описание образцов	$C_{\text{ДЭГФ}}$, мкг/л ($n=2, P=0.95$)
Июнь	Юж. Прибайкалье	р.Снежная	<0.1
		р.Переемная	
		р.Утулик	0.1÷0.2
		р.Солзан	
		р.Хара-Мурин	
		р.Сухая	
		р.Селенга (выше г.Улан-Удэ)	0.1÷0.2
		р.Селенга (ниже г.Улан-Удэ)	0.3±0.1
		Участки в дельте р.Селенга	0.1÷0.2
Август	р.Селенга	Выше г.Улан-Удэ	0.1÷0.2
		Ниже г.Улан-Удэ	0.3±0.1
		Участки в дельте р.Селенга	<0.1
Сентябрь	р.Ангара	г.Иркутск (Академгородок)	0.1÷0.2
		г.Ангарск	0.3±0.1
			0.5±0.2

Из приведенных в табл. 6 данных следует, что в 2001 г. содержание ДЭГФ в речных водах, впадающих в Байкал, было практически таким же, как в водах Южного Байкала (0.1-0.2 мкг/л). В этом смысле притоки Байкала нельзя рассматривать как заметные локальные источники эмиссии ДЭГФ.

Интерес представляют результаты определения ДЭГФ в р. Селенга. Полученные данные свидетельствуют о том, что очистные сооружения г. Улан-Удэ сбрасывают заметные количества ДЭГФ, но он не попадает в Байкал, т.к. в дельте Селенги его концентрация снижается до фоновых значений.

В отличие от байкальской воды, вода из Селенги содержит поглощающие УФ излучение вещества, более гидрофобные, чем ДЭГФ, причем эти вещества присутствуют в ней как ниже, так и выше г. Улан-Удэ (см. рис. 13). Идентификация этих веществ не входила в нашу задачу, но можно предположить, что они являются характерными для селенгинской воды и могут рассматриваться как ее трассеры.

Концентрация ДЭГФ в водах р. Ангара вблизи Иркутска такая же, как и в

водах Южного Байкала. Лишь ниже г. Ангарска – крупного центра химической промышленности – уровень концентрации ДЭГФ заметно выше.

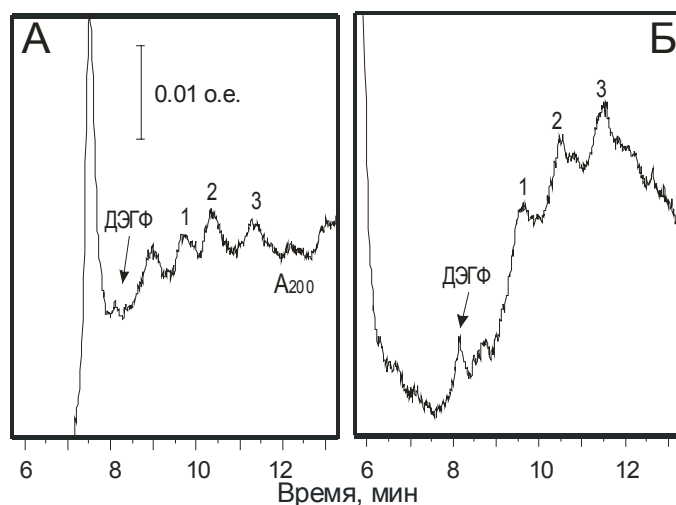


Рис. 13. ДЭГФ в воде р. Селенга выше (А) и ниже (Б) по течению от г. Улан-Удэ.

Колонка 2x75 мм с Nucleosil 100-5 C₁₈; элюент: MeOH-H₂O (90:10); скорость потока 0.15 мл/мин; температура +50°C. Образец: 10 мл воды с добавкой изопропилового спирта (5% об.). 1, 2 и 3 – пики неидентифицированных веществ.

Из приведенных в табл. 7 данных о содержании ДЭГФ в природных водах различных районов мира следует, что найденные нами уровни концентрации ДЭГФ в водах Байкала и его притоков можно отнести к фоновым.

Таблица 7. Содержание ДЭГФ в природных водах некоторых районов мира.

Описание объекта	С _{ДЭГФ} , мкг/л	Литература
Речная вода, Италия	0.3÷31.2	Vitali et al., 1997
Подземные воды в бассейне р.Томь (Кузбасс)	5.2÷7.5	Рассказов и др., 1995
Морская вода, Бискайский залив, Испания	2.1÷3.2	Penalver et al., 2000 Cortazar et al., 2002
Река Эбро, Испания	1.1	Penalver et al., 2000
Поверхностная вода, бассейн Рейна, ФРГ	0.3÷100	Fromme et al., 2002
Речная вода, Цюрих, Швейцария	0.005÷0.5	Riekkola et al., 1998
Озеро Тайху, Китай	0.3÷15	Hai et al., 2003
Речная вода, Тайвань	1÷18.5	Yuan et al., 2002

4.3. Определение ДЭГФ в снеге, во льду, в дождевой воде.

Снежный покров является естественным аккумулятором органических веществ. Количество этих веществ в снеге можно использовать для интегральной оценки объема поступления веществ из атмосферы на подстилающую поверхность за зимний период, а также для трассирования выбросов от локального источника эмиссии.

Результаты такого исследования, выполненного нами в 1997 г., приведены на рис. 14 [Барам, Азарова и др., 2000]. Пробы снега в направлении Иркутск-Листвянка отбирали в марте в стеклянные банки, транспортировали и хранили до анализа замороженными. Снеговую воду перед анализом фильтровали через фильтр из пористой нержавеющей стали с порами 2 мкм.

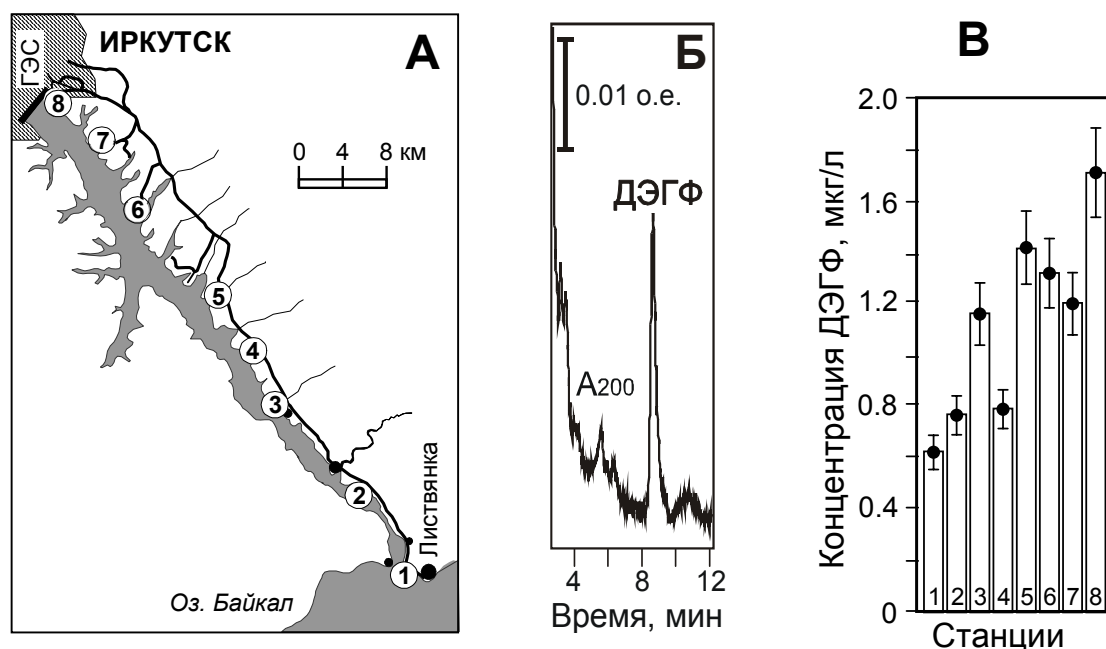


Рис. 14. Определение ДЭГФ в снежном покрове [Барам, Азарова и др., 2000].

А – схема отбора проб снега вдоль Иркутского водохранилища (март 1997).

Б – хроматограмма снеговой воды (проба снега со станции №8).

В – содержание ДЭГФ в снеговой воде из снега, отобранного вдоль Иркутского водохранилища (от оз. Байкал до плотины Иркутской ГЭС).

Условия ВЭЖХ анализа: колонка 2x75 мм с Nucleosil 100-5 C₁₈; элюент – MeOH-H₂O (85:15); скорость потока 0.2 мл/мин; температура +40°C.

Как следует из рис. 14 В, содержание ДЭГФ в снеге увеличивается от Байкала до Иркутска примерно в 3 раза. Повышенное содержание ДЭГФ в пробе снега, отобранного на станции №3, объясняется непосредственной близостью

довольно крупного населенного пункта Большая Речка.

Такой же аккумулярующей средой по отношению к ДЭГФ является байкальский лед. Это показали наши исследования, проведенные в марте-апреле 2001 г. в лаборатории, располагавшейся на льду Южного Байкала (см. рис. 15).

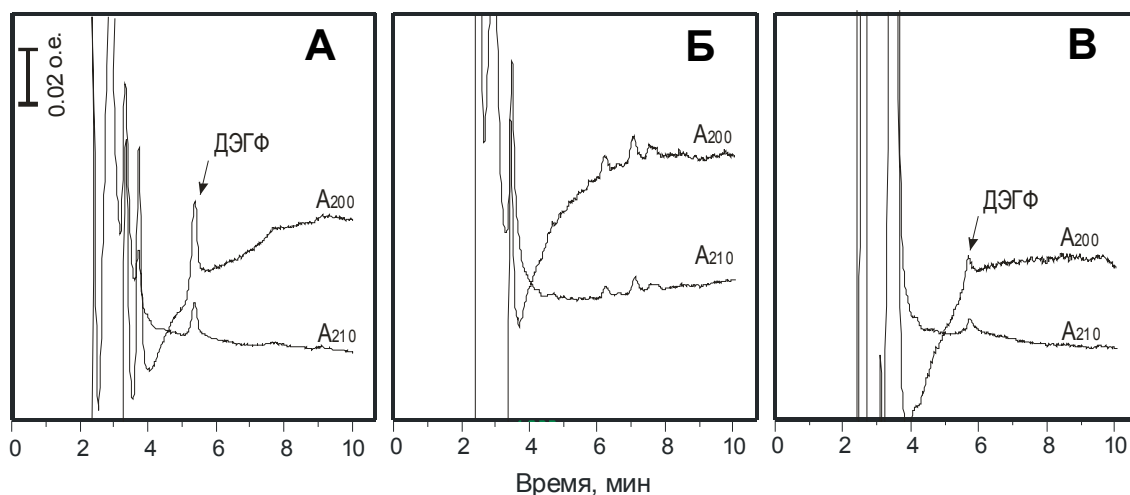


Рис. 15. Определение ДЭГФ во льду (А), в поверхностной (подледной) воде (Б) и в придонной воде (В).

Колонка 2x75 мм с Nucleosil 100-5 C₁₈; элюент: MeOH-H₂O (90:10); скорость потока 0.2 мл/мин; температура +50°C. Образцы: по 10 мл.

Концентрация ДЭГФ в исследованных объектах составила (мкг/л):

- лед (верхние 10 см) – 1.33 ± 0.26 ;
- поверхностная (подледная) вода – < 0.1 ;
- глубинная вода (гл. 100-1200 м) – < 0.1 ;
- придонная вода (гл. 1360 м) – 0.46 ± 0.12 .

Очень высокая концентрация ДЭГФ во льду по сравнению с его концентрацией в воде делает это вещество весьма интересным химическим трассером, полезным для изучения особенностей перемешивания байкальских вод в период таяния льда.

Относительно высокое содержание ДЭГФ в придонной воде можно объяснить тем, что она содержала взвешенные частицы, на которых был адсорбирован фталат.

Обращает на себя внимание то, что найденное нами содержание ДЭГФ в глубинной байкальской воде в зимнее время заметно ниже, чем в летнее. Две вероятные причины снижения концентрации ДЭГФ в воде – деградация его микроорганизмами или адсорбция ДЭГФ на поверхности взвешенных частиц и

осаждение с ними на дно.

В подледной воде обнаружены поглощающие УФ излучение вещества (см. рис. 15 Б), более гидрофобные, чем ДЭГФ, но идентификацию их мы не проводили.

Содержание ДЭГФ в дождевой воде в черте г. Иркутска составило $<0.3 \div 0.3 \pm 0.1$ мкг/л (июнь 1998 г.), что близко к фоновым значениям [Барам, Азарова и др., 2000].

4.4. Определение ДЭГФ в почве.

Важным объектом экосистемы является почва. Содержание фталатов в почве сильно зависит от месторасположения, физико-химических характеристик, "предистории" и способа обработки почвы [O'Connor, 1996; Vikelsoe et al., 2002]. На необрабатываемых участках, где источниками фталатов являются атмосфера и грунтовые воды, концентрации этих веществ значительно ниже, чем на сельскохозяйственных угодьях, особенно там, где для удобрения применяется "активный ил" [Vikelsoe et al., 2002].

Для оценки содержания ДЭГФ в почве пробы были отобраны сразу после таяния снежного покрова. По нашим данным, приведенным выше, концентрация ДЭГФ в снеге в черте города Иркутска составляет $1 \div 2$ мкг/л, в дождевой воде около 0.3 мкг/л. Среднегодовая сумма осадков в Иркутске 500 мм, из них на зимний период приходится около 100 мм [Байкал. Атлас, 1993]. Таким образом, ежегодное осаждение ДЭГФ на почву оценивается в $200 \div 400$ мкг/(м²·год), что несколько ниже данных для Западной Европы ($300 \div 600$ мкг/(м²·год)), приведенных в [Корте, 1997; Furtmann, 1993].

Если ДЭГФ, поступающий из атмосферы при выпадении осадков только за 1 год, аккумулируется в верхних 5 мм почвы, то его концентрация должна быть приблизительно 100 нг/г (в расчете на сухой вес при влажности образца почвы 50%). За несколько лет при условии отсутствия разложения концентрация ДЭГФ должна быть соответственно выше. В любом случае уровень концентрации ДЭГФ, равный 100 нг/г, можно считать ожидаемым и, исходя из него, формулировать требования к чувствительности методики анализа.

Предел определения ДЭГФ в почве по разработанной нами методике составляет 17 нг/г сухого веса, степень извлечения 90% ($C_{\text{ДЭГФ}}=200$ нг/г сухого вещества, $n=4$). Хроматограмма экстракта почвы с добавкой ДЭГФ (160 нг/г сухого веса, влажность 47,5%) приведена на рис. 16. Был проведен анализ 12 образцов почвы, взятых с поверхности (в слое 2÷5 мм) и с глубины 50 и 100 мм. В пробах поверхностного слоя концентрация ДЭГФ была на уровне 17÷20 нг/г сухого веса, в остальных образцах ниже предела обнаружения.

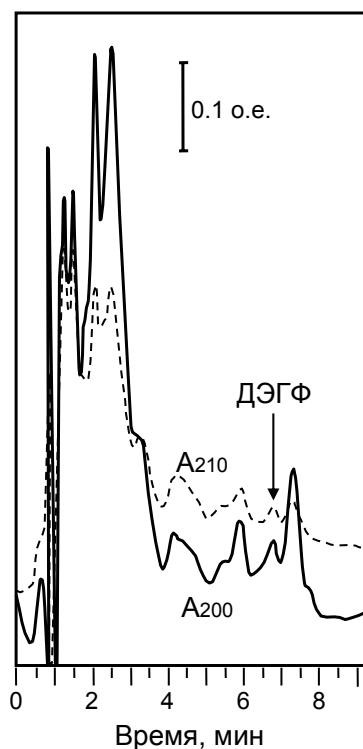


Рис.16. Хроматограмма экстракта почвы с добавкой ДЭГФ.

Колонка 2x75 мм, Nucleosil 100-5 C_{18} ; элюент "А": H_2O ; элюент "Б": MeOH; градиент: 85% "Б" 9 мин, 100% "Б" 3 мин; скорость потока 0.2 мл/мин; температура +50°C. Образец: 20 мкл метанольного раствора экстракта образца почвы массой 2 г.

Период полураспада ДЭГФ в почве по результатам модельных экспериментов оценивается от 10 до 100 суток [Jonsson et al., 2003]. Найденное нами низкое содержание ДЭГФ в почве можно объяснить достаточно быстрой его биодegradацией, что согласуется также с данными [Furtmann, 1993].

4.5. Определение ДЭГФ в донных осадках озера Байкал.

Донные осадки водоемов можно рассматривать как потенциальный источник вторичной эмиссии фталатов [Petrovic et al., 2001]. Поэтому исследование содержания фталатов в донных отложениях является важной частью многих мониторинговых программ [Vitali et al., 1997]. Максимальные концентрации фталатов в речных осадках найдены вблизи предприятий по производству и переработке пластмасс. В большинстве исследований отмечается, что влияние этих мощных локальных источников эмиссии фталатов распространяется, как правило, не более чем на несколько километров вниз по течению.

Скорость осадконакопления в оз. Байкал очень мала и составляет для Южной котловины $0.6 \div 0.7$ мм/год [Edgington et al., 1991]. Таким образом, за 50 лет с начала крупнотоннажного производства фталатов в мире и, соответственно, их эмиссии в атмосферу, толщина накопленного осадочного слоя в озере не превышает 35 мм. Необходимо принять во внимание и возможное перемешивание верхнего слоя осадков донными живыми организмами (амфиподами). Исходя из этого, нами были взяты образцы осадков на глубину 10 см. Результаты анализа приведены в табл. 8; типичная хроматограмма экстракта донных отложений показана на рис. 17. Предел обнаружения ДЭГФ в осадках составил 30 нг/г сухого вещества (влажность образцов $75.6 \div 80.2\%$). Степень извлечения ДЭГФ 90% ($C_{\text{ДЭГФ}}=200$ нг/г сухого вещества, $n=4$).

Таблица 8. Концентрации ДЭГФ в донных отложениях оз. Байкал.

Глубина донных осадков, мм от поверхности	$C_{\text{ДЭГФ}}$, нг/г сухого веса ($n=2$)
0÷5	43±10
5÷10	30±15
10÷15	<30
15÷20	<30
45÷50	<30
90÷100	<30

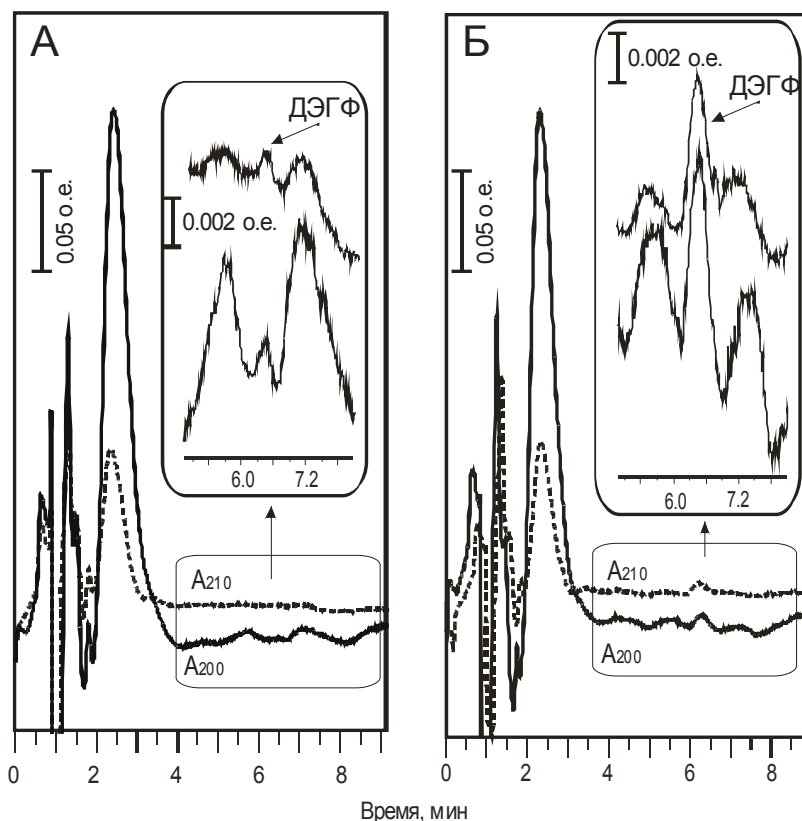


Рис. 17. Хроматограммы экстрактов донных отложений из оз. Байкал.

А– экстракт слоя осадка с глубины 0÷0.5 см; **Б**– экстракт **А** с добавкой ДЭГФ. Колонка 2x75 мм с Nucleosil 100-5 C₁₈; элюент "А": Н₂О; элюент "Б": MeOH; градиент: 85% "Б" 9 мин, 100% "Б" 3 мин; скорость потока 0.2 мл/мин; температура +50°С. Образец: 10 мкл метанольного раствора экстракта образца донных отложений массой 2 г.

Принимая среднюю концентрацию ДЭГФ в воде оз. Байкал равной 0.2 мкг/л, и среднюю концентрацию в верхних 10 мм осадка равной 40 мкг/кг, можно оценить коэффициент аккумуляции (K_A) ДЭГФ в осадке как

$$K_A = C_{OC} / C_B,$$

где C_{OC} – концентрация ДЭГФ в донных отложениях (мкг на кг сухого вещества); C_B – концентрация ДЭГФ в воде (мкг/кг).

Полученное значение K_A составляет около 200, что по порядку величины соответствует данным Vitali et al. [1997], найденным для осадков из рек и озер Италии. Высокое значение K_A свидетельствует о том, что донные отложения являются "емким" аккумулятором ДЭГФ, а сам процесс осаждения взвешенных

частиц и образования осадка представляется важнейшим путем вывода ДЭГФ из водной толщи озера.

4.6. Изучение сорбции ДЭГФ на взвешенных частицах.

Понимание механизмов взаимодействия ДЭГФ со взвешенными частицами необходимо, прежде всего, для исследования процессов его транспорта в водных экосистемах. Эти механизмы изучаются как в природных, так и в модельных условиях. Для этого разработаны весьма сложные методологические подходы, учитывающие природу взвешенных частиц и многочисленные факторы, влияющие на поведение ДЭГФ в системе "вода-взвесь" [Petrovic et al., 2001; Schwarzenbach R.P. et al., 1993; Zhou et al., 2000].

Для оценки сорбционной способности донных осадков, характерных для оз. Байкал мы исследовали кинетику адсорбции ДЭГФ на двух осадках с разным содержанием органического углерода ($C_{орг}$). Кинетические кривые сорбции ДЭГФ приведены на рис. 18.

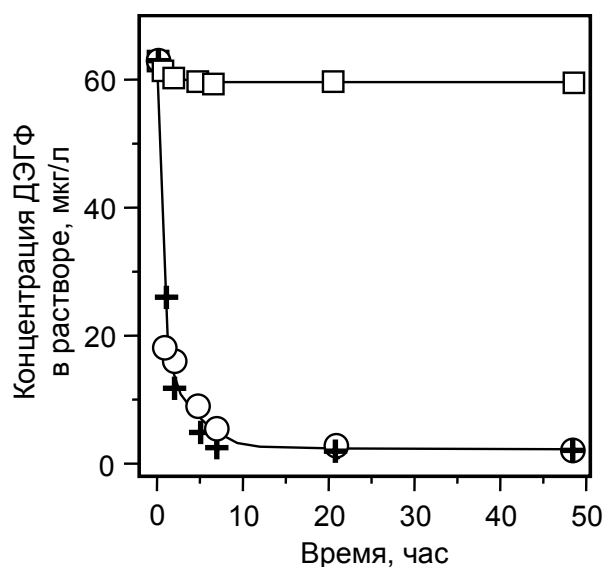


Рис. 18. Кинетические кривые адсорбции ДЭГФ на частицах осадка.

+ и **○**- кривые для водных растворов ДЭГФ с осадками №1 (3.70% $C_{орг}$) и №2 (1.52% $C_{орг}$) соответственно; **□**- контроль (раствор ДЭГФ без осадка). Объем суспензии 400 мл, концентрация твердых частиц 5 г/л, концентрация ДЭГФ 60 мкг/л. Температура 22°C.

Из кривых следует, что в выбранных нами условиях оба осадка, независимо от содержания органического углерода, практически полностью

сорбируют ДЭГФ из воды за 10-20 часов. Это вполне согласуется с литературными данными, авторы которых предполагают распределительный механизм взаимодействия ДЭГФ с частицами взвеси [Rawling et al., 2000; Zhou et al., 2000].

Ряд исследователей отмечают зависимость коэффициента распределения ДЭГФ от концентрации суспензии (так называемый *particle concentration effect*, PCE). Уменьшение наблюдаемого коэффициента распределения с увеличением концентрации взвеси в модельных экспериментах связывают с присутствием коллоидных частиц, которые при отделении осадка (на центрифуге или путем фильтрования) остаются в растворе. Коллоидная фракция составляет в среднем 1-8% от сухой массы осадка [Zhou et al., 2000]. Нормирование коэффициентов распределения по отношению к концентрации коллоида – "третьей фазы" – дает близкие результаты в широком диапазоне концентраций суспензии и для разных осадков.

Приведенные нами величины остаточной концентрации ДЭГФ в водной фазе получены после центрифугирования суспензии и последующего фильтрования через фильтр с диаметром пор 0.45 мкм, что позволило отделить взвешенные частицы твердой фазы, за исключением коллоидных частиц. Когда твердую фазу отделяли центрифугированием (как это сделано в работе [Zhou et al., 2000]) и затем фильтровали раствор через фильтр с порами 2 мкм, то в "водной фазе" концентрация ДЭГФ составляла 7.4 ± 0.7 и 16.2 ± 1.5 мкг/л для осадков с $C_{\text{орг}}$ соответственно 1.52% и 3.70%. Эти величины концентраций ДЭГФ заметно выше, чем после фильтрации через фильтр с порами 0.45 мкм.

Таким образом, наблюдаемая степень адсорбции для ДЭГФ в системе "вода-частицы осадка" существенно зависит от полноты отделения взвешенных частиц. Для получения "правильных" данных по адсорбционной способности различных донных осадков необходимо использовать фильтры с порами 0.1 мкм или ультрафильтры.

Полученные данные модельных экспериментов позволяют оценить порядок ожидаемой концентрации ДЭГФ в осадке оз. Байкал путем рассуждений, основанных на следующих допущениях: средняя концентрация

ДЭГФ в байкальской воде не изменялась последние 25 лет и составляла 0.2 мкг/л; среднее содержание взвешенных частиц – 0.4 мг/л [Potyomkina et al., 2000]; скорость осадконакопления – 0.6 мм/год [Edgington et al., 1991]; влажность верхнего слоя осадка – 80% [Goldberg, ..., Azarova, et al., 2001].

Из этих исходных данных следует, что масса осадка, накопившегося за год на участке поверхности дна площадью 1 дм², составит около 6 г при его плотности примерно 1 г/см³, или 1 г в пересчете на сухое вещество. Так как масса взвешенных частиц в слое воды глубиной 1000 м над 1 дм² осадка равна около 4 г, то захоранивается в осадке за год примерно 25% из этого количества. Предполагая, что весь ДЭГФ, содержащийся в водной толще, связан с частицами, его количество в осевшей взвеси составит за год 50 мкг/дм². Это соответствует концентрации в осадке 50 мкг на 1 г сухого веса, что в 1000 раз больше найденной нами концентрации ДЭГФ для осадков Южного Байкала (раздел 4.5.).

Принимая во внимание, что период химического полураспада (гидролиза) ДЭГФ в нейтральной среде оценивается в 2000 лет [Furtmann, 1993], и исключая возможность фотолитического распада, можно предполагать, что единственной причиной очень низкой концентрации ДЭГФ в донных осадках Байкала является его разложение под действием микроорганизмов.

4.7. Изучение биодegradации ДЭГФ микроорганизмами.

Явление биодegradации ДЭГФ различными видами бактерий как в аэробных, так и в анаэробных условиях хорошо известно и подробно рассмотрено в обзоре [Staples et al., 1997]. В зависимости от многих факторов, скорость биодegradации ДЭГФ может существенно различаться. Так, в речной воде время полураспада ДЭГФ составляет от нескольких дней до нескольких недель [Rawling et al., 2000]. Скорость биодegradации возрастает в летнее время, когда температура воды и аутоотрофная активность повышаются. Дegradация в осадке происходит медленнее. Например, было показано, что содержание ДЭГФ в пресноводном осадке при инкубировании его в течение 14 дней при 22°C уменьшилось менее чем на 2% [Rawling et al., 2000]. Корреляция между ростом

использования фталатов и увеличением их концентраций в донных осадках, наблюдавшаяся в 70-80-х годах, также свидетельствует о том, что в природных условиях процесс деградации может быть замедлен [Rawling et al., 2000].

В своих экспериментах по изучению биodeградации ДЭГФ [Азарова и др., 2003] мы использовали микроорганизмы, выделенные из различных объектов экосистемы оз. Байкал и принадлежащие к разным систематическим группам: актиномицеты *Micromonospora purpurea* и *Streptomyces sp.*; аэробные бактерии из рода *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. fluorescens* и *P. putida*); спорообразующие бактерии из рода *Bacillus*.

Скорость биodeградации ДЭГФ оценивали по изменению его концентрации в культуральной среде методом ОФ ВЭЖХ (см. рис. 19 А). Практически все микроорганизмы – как микробные сообщества воды и донных осадков, так и чистые культуры, выделенные из донных отложений – разрушали ДЭГФ с заметной скоростью (примеры – на рис. 19 Б и В).

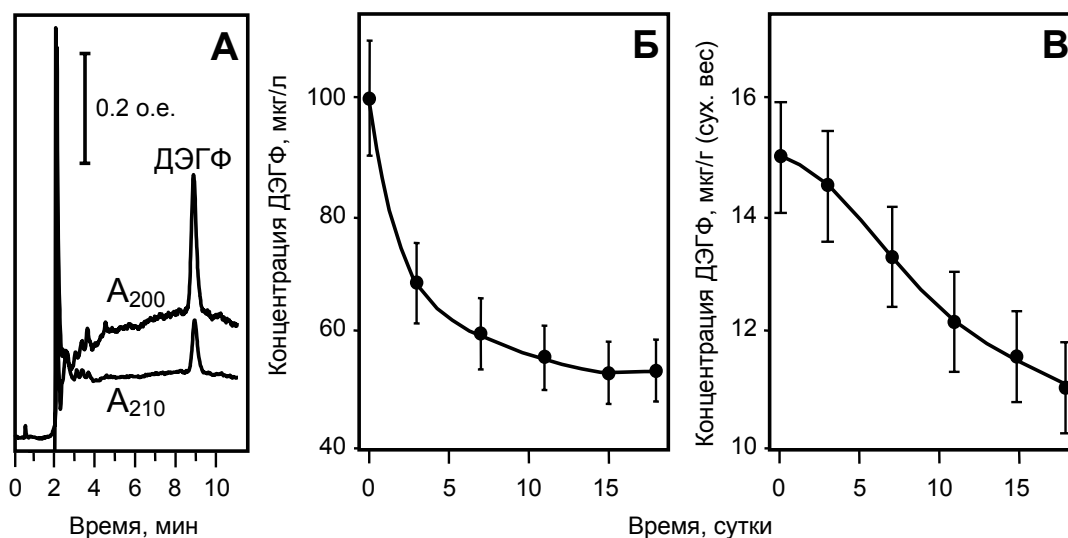


Рис. 19. Изучение биodeградации ДЭГФ микроорганизмами [Азарова и др., 2003].

А- определение ДЭГФ в культуральной жидкости *Micromonospora purpurea* (штамм М110). Колонка 2x75 мм с Nucleosil 100-5 C₁₈; элюент: H₂O-МеОН (15:85); скорость потока 0.2 мл/мин; t=+50°C.

Образец: 2 мл культуральной жидкости (C_{ДЭГФ}=180±2 мкг/л).

Б- динамика деградации ДЭГФ в воде из р. Селенги.

В- динамика деградации ДЭГФ в донных осадках.

Лимитирующим фактором роста численности микроорганизмов в опытах,

где в качестве среды использовалась маломинерализованная природная вода, был, очевидно, дефицит биогенных элементов ("бедные" среды). Этим, в свою очередь, можно объяснить неполную деградацию ДЭГФ в наших экспериментах.

4.8. Биоаккумуляция ДЭГФ в жире омуля и нерпы.

Гидрофобные химически устойчивые соединения, попадая в водоемы, имеют свойство накапливаться в жировой ткани водных организмов, причем, чем выше уровень трофической (пищевой) цепи, занимаемый организмом, тем больше степень накопления (коэффициент биоаккумуляции). В литературе имеются данные о содержании фталатов в тканях различных организмов [Giam et al., 1978; Giam et al., 1984; Holadova et al., 1995], но эта информация весьма ограничена.

Представители высших трофических уровней экосистемы оз. Байкал – омуль и байкальский тюлень (нерпа) – имеют промысловое значение. Поэтому данные о содержании в этих организмах антропогенных гидрофобных органических веществ, кроме балансовых оценок состояния экосистемы озера, имеют практическое значение. В 90-е годы довольно подробно исследовали накопление ряда хлорорганических соединений – DDT, DDD, DDE, ПХБ, токсафена, гексахлорбензола, гексахлорциклогексана – в тканях различных представителей байкальской фауны по всей трофической цепи [Kucklick et al., 1994; 1996]. Было показано, что, несмотря на то, что концентрация этих соединений в байкальской воде составляет 0.01-1 нг/л, в жире нерпы содержание этих веществ достигает 10 мг/кг [Грачев, 2002]. Биоаккумуляцию фталатов на Байкале, насколько нам известно, никто не изучал.

Определение фталатов, как и других органических ксенобиотиков, в образцах жира представляет собой сложную задачу. Для отделения липофильных веществ от матрицы в таких случаях применяются 2 основных подхода:

- экстракция аналита из жира подходящим органическим растворителем (например, *n*-пропанолом);
- разрушение матрицы с помощью гидролиза.

При первом способе подготовки пробы резко возрастает риск

"вторичного" загрязнения фталатами, и определение фталатов существенно затрудняет присутствие мешающих липофильных веществ. Более простым представляется нам метод, разработанный совместно с Е.Д. Кирюхиной. Его суть заключается в щелочном гидролизе жира, при котором фталаты также гидролизуются до *орто*-фталевой кислоты (ФК) и соответствующих спиртов. При этом, очевидно, по количеству ФК в гидролизате можно судить о суммарном содержании фталатов в исходном образце жира. Этого вполне достаточно для оценки коэффициента биоаккумуляции.

Омыление жира проводили в течение 12 часов, и за это время фталаты также полностью гидролизировались. Для определения времени, необходимого для гидролиза фталатов, мы изучили кинетику гидролиза ДЭГФ, как одного из самых устойчивых фталатов. Кинетическая кривая показана на рис. 20. Практически полностью гидролиз ДЭГФ протекает в течение 6 часов.

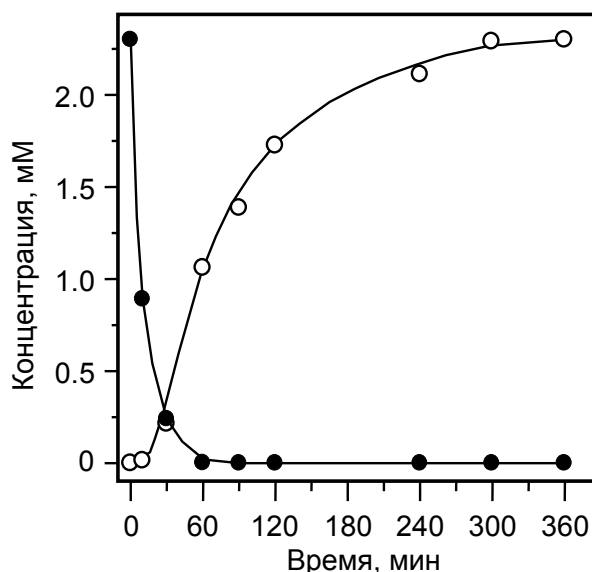


Рис. 20. Кинетика щелочного гидролиза ДЭГФ.

○- концентрация *орто*-фталева кислота; ●- концентрация ДЭГФ.

Хроматограмма водного раствора ФК, полученного после гидролиза образца жировой ткани нерпы, приведена на рис. 21.

Идентификацию пика ФК на хроматограммах проводили по двум критериям: по времени удерживания, используя метод внешнего стандарта и метод добавки, и по спектральному отношению (отношению площадей пиков

S_{230} и S_{240} на хроматограмме при $\lambda_1=230$ нм и $\lambda_2=240$ нм) $S_{240}/S_{230}=0.71\pm 0.02$. Суммарное содержание фталатов в жире оценивали с учетом результатов холостого опыта, в пересчете на ДЭГФ.

Результаты определения суммы фталатов в жире омуля и нерпы и коэффициенты биоаккумуляции (в расчете на среднюю концентрацию фталатов в воде оз. Байкал 0.5 мкг/л) приведены в табл. 9.

Таблица 9. Суммарное содержание фталатов в жире омуля и нерпы.

Образец	Сумма фталатов, мг/кг	Коэффициент биоаккумуляции
Жир омуля ($n=4$)	0.45 ± 0.09	900
Жир нерпы ($n=8$)	1.24 ± 0.25	2500

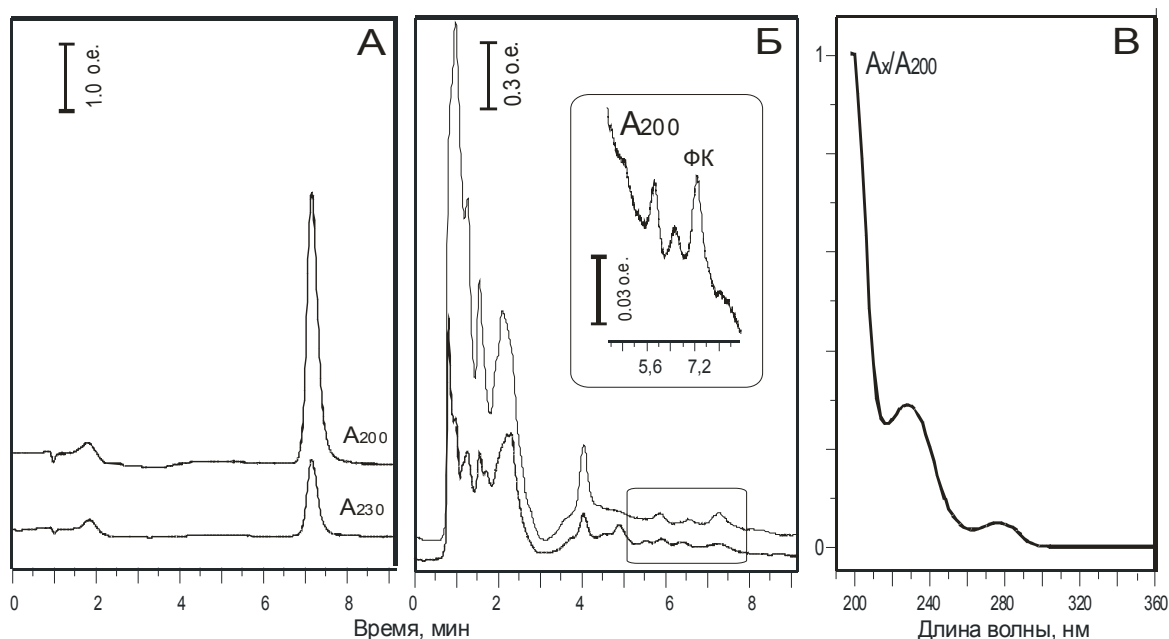


Рис. 21. Хроматограммы раствора *орто*-фталевой кислоты (ФК) (А), водного раствора щелочного гидролизата жира нерпы (Б) и нормированный УФ спектр ФК (В).

Колонка 2x75 мм с Silasorb SPH-C₁₈ (5 мкм); элюент А: MeOH-0.1 М Н₃РO₄, рН 2 (5:95); элюент Б: MeOH; изократическое элюирование: 7% Б; скорость потока 0.2 мл/мин; температура +40°C. Образцы: А- 2 мкл водного раствора бифталата калия (1 мг/мл); Б- 20 мкл подготовленного гидролизата жира нерпы. УФ спектр ФК (В) записан во время хроматографии после остановки потока вблизи максимума хроматографического пика.

По сравнению с хлорорганическими соединениями, степень

биоаккумуляции фталатов в тысячи раз меньше. Вероятно, это связано с тем, что фталаты аккумулируются в жировых тканях по другому механизму. Авторы работы [Petrovic et al., 2001] считают, что фталаты обладают ограниченной способностью к биоаккумуляции по трофической цепи в водных экосистемах, поскольку их биотрансформация возрастает в прогрессии с повышением трофического уровня.

5. ВЫВОДЫ.

1. Усовершенствована система химического мониторинга экосистемы озера Байкал путем включения в список анализируемых соединений ди(2-этилгексил)фталата (ДЭГФ), концентрация которого в различных объектах экосистемы определяется, главным образом, глобальными процессами.

2. Разработан метод ВЭЖХ-анализа ДЭГФ в воде с прямым концентрированием проб на колонке 2x75 мм с обращенно-фазовым сорбентом. Предел обнаружения метода составил 0.02 мкг/л, что позволяет его использовать для определения ДЭГФ в природных водах фоновых районов мира. Для обеспечения этого предела обнаружения разработаны способы очистки растворителей и лабораторной посуды от следов ДЭГФ, позволяющие максимально снизить вероятность вторичного загрязнения проб. Показана применимость метода для определения ДЭГФ в природных водных объектах с относительно низким содержанием органических веществ и взвешенных частиц (вода оз. Байкал, речная вода, атмосферные осадки). Метод апробирован в условиях полевой лаборатории.

3. Разработаны ВЭЖХ-методики для определения ДЭГФ в донных отложениях, в почве, в жировых тканях рыбы и тюленя, в культуральных жидкостях микроорганизмов.

4. Сделана оценка уровней содержания ДЭГФ в водных объектах экосистемы озера Байкал: в поверхностной и глубинной воде озера, в водах основных притоков Южного Байкала и р. Ангара. Показано, что за последние шесть лет концентрация ДЭГФ в байкальской воде снизилась более, чем в 4 раза.

5. Получены данные об уровне концентраций ДЭГФ в ледовом покрове озера, снежном покрове в направлении от Иркутска к Байкалу, в донных осадках и почве, данные о суммарном содержании фталатов в жировой ткани нерпы и омуля. Накопленная информация может быть использована для организации оптимизированной системы химического мониторинга ДЭГФ в экосистеме озера Байкал.

6. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.

CN-фаза – циан-*n*-пропилсиликагель.

DDD – 2,2-дихлор-1,1-*бис*-(*n*-хлорфенил)этан

DDE – 2,2-дихлор-1,1-*бис*-(*n*-хлорфенил)этилен

DDT – 2,2,2-трихлор-1,1-*бис*-(*n*-хлорфенил)этан

F – скорость потока подвижной фазы.

FAO – Food and Agricultural Organization (Организация ООН по вопросам продовольствия и сельского хозяйства, ФАО).

MeOH – метанол.

n – число измерений.

P – доверительная вероятность.

PAH – polynuclear aromatic hydrocarbons (ПАУ).

ppb – part per billion (одна часть на миллиард, мкг/кг).

ppm – part per million (одна часть на миллион, мг/кг).

ppt – part per trillion (одна часть на триллион, нг/кг).

s_r – относительное стандартное отклонение.

t – температура.

US EPA – United States Environmental Protection Agency (агентство по охране окружающей среды США).

WHO – World Health Organization (Всемирная Организация Здравоохранения, ВОЗ).

$\epsilon_M^{263\text{nm}}$ – коэффициент молярной экстинкции раствора вещества при $\lambda=263$ нм.

λ – длина волны света.

БаП – бенз[а]пирен.

ББФ – бензил-*n*-бутилфталат.

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография.

ВЭЖХ-УФ – ВЭЖХ с детекцией по поглощению УФ излучения.

ГХ – газовая хроматография.

ГХ-МС – газовая хроматография с масс-спектрометрической детекцией.

ДБФ – ди-*n*-бутилфталат.

ДМФ – диметилфталат.

ДОФ – ди-*n*-октилфталат.

ДЭГФ – ди(2-этилгексил)фталат.

ДЭФ – диэтилфталат.

ЖК – жирные кислоты.

ЖХ – жидкостная хроматография.

ЖХ-МС – жидкостная хроматография с масс-спектрометрической детекцией.

КЭ – капиллярный электрофорез.

МС – масс-спектрометрия.

МТФЭ – микротвердофазная экстракция.

ОФ – обращенная фаза; обращенно-фазовая.

ПАУ – полициклические ароматические углеводороды.

ПДУ – предельно допустимый уровень (концентрации).

ПХБ – полихлорбифенилы.

$C_{\text{орг}}$ – содержание органического углерода.

СПАВ – синтетические поверхностно-активные вещества.

ТФЭ – твердофазная экстракция.

УФ – ультрафиолетовый.

Фаза C_{18} – *n*-октадецилсиликагель.

ФК – *орто*-фталевая кислота.

ЯМР – ядерно-магнитный резонанс.

7. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

- Азарова И.Н., Горшков А.Г., Грачев М.А., Коржова Е.Н., Смагунова А.Н.* Определение элементной серы в донных осадках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. //Ж. аналит. химии. 2001. Т.56. №10. С. 1062-1066.
- Азарова И.Н., Парфенова В.В., Барам Г.И., Теркина И.А., Павлова О.Н., Сулова М.Ю.* Деградация бис-(2-этилгексил)фталата микроорганизмами воды и донных осадков реки Селенги и озера Байкал в условиях модельного эксперимента. //Прикладная биохимия и микробиология. 2003. №5. В печати.
- Байкал. Атлас.* Под ред. Г.И.Галазия. РАН. Сибирское отделение. Межведомственный совет по программе "Сибирь". Москва: Федеральная служба геодезии и картографии. 1993. 160 сс.
- Барам Г.И., Азарова И.Н., Горшков А.Г., Верещагин А.Л., Ланг Б., Кирюхина Е.Д.* Определение бис-(2-этилгексил)фталата в воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с прямым концентрированием на хроматографической колонке. //Ж. аналит. химии. 2000. Т.55. №8. С.834-839.
- Барам Г.И., Верещагин А.Л., Голобокова Л.П.* Микроколоночная высокоэффективная жидкостная хроматография с УФ-детектированием для определения анионов в объектах окружающей среды. //Ж. аналит. химии. 1999. Т.54. №9. С.962-965.
- Барам Г.И., Верещагин А.Л., Кожанова Л.А., Шамовский Г.Г.* Жидкостно-хроматографическое определение кислорода в воде и газовой фазе. //Ж. аналит. химии. 1999. Т.54. №8. С.834-835.
- Барам Г.И., Маринайте И.И., Надобнов С.В.* Групповое определение хлорфенолов в желчи рыб как тест на загрязнение водоема стоками предприятий целлюлозной промышленности. //Ж. физ. химии. 1991. Т.65. №12. С.3369-3374.
- Бокрис Дж.О.М. (Ред.).* Химия окружающей среды. Москва: Химия. 1982. 671 сс.
- Верещагин А.Л., Дудинский В.Ф., Голобокова Л.П., Барам Г.И., Грачев М.А.* Определение поглощающих в УФ-области анионов в объектах окружающей среды методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии. //Ж. аналит. химии. 2000. Т.55. №10. С.1111-1114.
- Вотинцев К.К.* Гидрохимия озера Байкал. Москва: Издательство АН СССР. 1961. 308 сс.
- Вредные химические вещества. Углеводороды и галоген-производные углеводородов. Ленинград: Химия. 1990.732 сс.
- Глызина О.Ю., Барам Г.И.* Исследование фотосинтетических пигментов симбиотических водорослей байкальских губок. //Химия в интересах устойчивого развития. 2002. Т.10. С.301-305.
- Гордон А., Форд Р.* Спутник химика. Москва: Мир. 1976. С.441.

- Грачев М.А.* О современном состоянии экологической системы озера Байкал. Новосибирск: Издательство СО РАН. 2002. 156 сс.
- Грачев М.А., Артемова Н.Б., Барам Г.И., Надобнов С.В.* Накопление хлорфенолов в рыбах приемных водоемов предприятий целлюлозной промышленности. //ДАН СССР. 1989. Т.309. №2. С.508-511.
- Демьянов П.И.* Химические методы получения производных при хроматографическом определении фенолов. //Ж. аналит. химии. 1992. Т.17. №12. С.1942-1966.
- Другов Ю.С.* Экологическая аналитическая химия. С.-Петербург: ООО "Анатолия". 2000. 432 сс.
- Зенин А.А., Белоусов Н.В.* Гидрохимический словарь. Ленинград: Гидрометеоздат. 1988. С.65.
- Исии Д.* (Ред.). Введение в микромасштабную высокоэффективную хроматографию. Москва: Мир. 1991. 240 сс.
- Корте Ф.* (Ред.). Экологическая химия. Москва: Мир. 1997. 395 сс.
- Косман В.М., Зенкевич И.Г.* Информационное обеспечение для идентификации фенольных соединений растительного происхождения в обращенно-фазной ВЭЖХ. Флавоны, флавонолы, флавононы и их гликозиды. //Растительные ресурсы. 1997. Т.33. Вып.2. С.14-26.
- Купцов В.М.* Методы хронологии четвертичных отложений океанов и морей. Москва: Наука. 1989. 288 сс.
- Медведева С.А., Хуторянский В.А., Иванова С.З., Спиридонова Л.Н., Бабкин В.А., Барам Г.И.* Анализ ароматических метаболитов – продуктов биодеструкции лигнина и моделирующих его соединений – с использованием ВЭЖХ. //Химия древесины. 1990. №3. С.72-75.
- Остроумов Э.А.* (Ред.). Химический анализ морских осадков. Москва: Наука. 1988. 263 с.
- Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение.* Москва: Изд-во "ВНИРО". 1999. 303 сс.
- Рассказов Н.М., Шварцев С.Л., Трифонова Н.А., Наливайко Н.Г.* Нелетучие органические вещества и микроорганизмы в подземных водах района Крапивинского водохранилища на реке Томь (Кузбасс). //Геология и геофизика. 1995. №4. С.30-36.
- Сенченкова Е.М.* М.С.Цвет – создатель хроматографии. Москва: Янус-К. 1997. 440 сс.
- Скрябин Г.К.* (Ред.). Глобальный биогеохимический цикл серы и влияние на него деятельности человека. Москва: Наука. 1983. 420 с.

Сониясси Р., Сандра П., Шлетт К. Анализ воды: органические микропримеси. Германия: Hewlett-Packard Company. 1994. HP Part No.5962-6216R. 248 сс.

Суздорф А.Р., Морозов С.В., Кузубова Л.И., Анишиц Н.Н., Анишиц А.Г. Полициклические ароматические углеводороды в окружающей среде: источники, профили и маршруты превращения. //Химия в интересах устойчивого развития. 1994. №2. С.511-540.

Сутурин А.Н., Парадина Л.Ф., Эпов В.Н., Семенов А.Р., Ложкин В.И. Разработка стандартного образца состава глубинной байкальской воды. //Химия в интересах устойчивого развития. 2002. Т.10. С.475-484.

Темини М., Штайнмюллер Д. Липиды. //Хеншен А. и др. (Ред.). Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии. Москва: Мир. 1988. С.392-414.

Тимербаев А.Р., Петрухин О.М. Жидкостная адсорбционная хроматография хелатов. Москва: Наука. 1989. 284 сс.

Цвет М.С. О новой категории адсорбционных явлений и о применении их к биохимическому анализу. //Труды Варшавского Общества Естествоиспытателей. Год XIV. Отделение Биологии. – Протокол №6. 1903. С.1-20.

Шпигун О.А., Золотов Ю.А. Ионная хроматография и ее применение в анализе вод. Москва: Издательство МГУ. 1990. 198 сс.

Aguilara C., Ferrer I., Borrulla F., Marce R.M., Barcelo D. Monitoring of pesticides in river water based on samples previously stored in polymeric cartridges followed by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-diode array detection and confirmation by atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. //Analytica Chimica Acta. 1999. V.386. P.237-248.

Alpendurada M. de F. Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. //J. Chromatogr. A. 2000. V.889. P.3-14.

Bakerbond spe Application notes, EN-013 (ref. Sherma J., Dryer J., Bouvard J.J. //American Laboratory. 1986. №11.).

Bald E., Sypniewski S. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic determination of sulfide in an aqueous matrix using 2-iodo-1-methylpyridinium chloride as a precolumn ultraviolet derivatisation reagent. //J. Chromatogr. 1993. V.641. P.184-188.

Balinova A. Strategies for chromatographic analysis of pesticide residues in water. //J. Chromatogr. A. 1996. V.754. P.125-135.

Bandh C., Ishaq R., Broman D., Naf C., Ronquist-Nii Y., Zebuhr Y. Separation for Subsequent Analysis of PCBs, PCDD/Fs, and PAHs According to Aromaticity and Planarity Using a Two-Dimensional HPLC System. //Environ. Sci. Technol. 1996. V.30. P.214-219.

Baram G.I., Grachev M.A., Komarova N.I., Perelroizen M.P., Bolvanov Yu.A., Kuzmin S.V., Kargaltsev V.V., Kuper E.A. Microcolumn liquid chromatography with multiwavelength photometric detection. I. The OB-4 micro-column liquid chromatograph. //J. Chromatogr. 1983. V.264. P.69-90.

Baram G., Gorshkov G., Grachev M., Kiryuhina E., Lang B., Vereshchagin A. Di(2-ethylhexyl)phthalate in Lake Baikal. //Abstr. of Intern. Congress on Analyt. Chemistry. Moscow. 1997. V.1. E-105.

Baram G.I. Portable liquid chromatograph for mobile laboratories. I. Aims. //J. Chromatogr. A. 1996. V.728. No.1-2. P.387-399.

Barcelo D. Application of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in Environmental Chemistry. Amsterdam: Elsevier. 1995. 437 pp.

Barcelo D. (Ed.). Trace Determination of Pesticides and their Degradation Products in Water. Amsterdam: Elsevier. 1997. 556 pp.

Barcelo D. (Ed.). Sample Handling and Trace Analysis of Pollutants: Techniques, Applications and Quality Assurance. Amsterdam: Elsevier. 2000. 1116 pp.

Bauer M.J., Herrmann R. Estimation of the environmental contamination by phthalic acid esters leaching from household wastes. //The Science of the Total Environment. 1997. V.208. P.49-57.

Bhushan R., Joshi S. Resolution of enantiomers of amino acids by HPLC. //Biomed. Chromatogr. 1993. V.7. P.235-250.

Bobeldijk I., Vissers J.P.C., Kearney G., Major H., van Leerdam J.A. Screening and identification of unknown contaminants in water with liquid chromatography and quadrupole-orthogonal acceleration-time-of-flight tandem mass spectrometry. //J.Chromatogr. A. 2001. V.929. P.63-74.

Boloubassi I., Saliot A. Sources and transport of hydrocarbons in the Rhone delta sediments (northwestern Mediterranean). //J. Anal. Chem. 1991. V.339. P.765-771.

Braungart M., Russel H. Separation of Molybdoheteropoly Acids of Phosphorus, Arsenic, Silicon and Germanium as Ion-Associates by HPLC. Application to Quantitative Determination in Water. //Chromatographia. 1984. V.19. P.185-187.

Brossa L., Marce R.M., Borrull F., Pocurull E. Application of on-line solid-phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry to the determination of endocrine disruptors in water samples. //J. Chromatogr. A. 2002. V. 963. P.287-294.

Castillo M., Barcelo D. Characterisation of organic pollutants in textile wastewaters and landfill leachate by using toxicity-based fractionation methods followed by liquid and gas chromatography coupled to mass spectrometric detection. //Analytica Chimica Acta. 2000. V.426. P.253-264.

Christie M.M. Some recent advances in the chromatographic analysis of lipids. //Analysis Magazine. 1998. V.26. No.3. P.M34-M40.

- Cortazar E., Zuloaga O., Sanz J., Raposo J.C., Etxebarria N., Fernandez L.A.* MultiSimplex optimisation of the solid-phase microextraction–gas chromatographic–mass spectrometric determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls and phthalates from water samples. //J. Chromatogr. A. 2002. V.978. P.165–175.
- De Llasera M.P.G., Bernal-Gonzales M.* Presence of Carbamate Pesticides in Environmental Waters from the Northwest of Mexico: Determination by Liquid Chromatography. //Wat. Res. 2001. V.35. No.8. P.1933-1940.
- De Oude (Ed.).* Detergents. //The Handbook of Environmental Chemistry. Hutzinger O. (Ed.). V.3. Part C. Antropogenic Compounds. Berlin: Springer-Verlag. 1992. 403 pp.
- Dreux M., Lafosse M., Pequignot M.* Separation of inorganic anions by ion-pair, reverse-phase liquid chromatography monitored by indirect photometry. //Chromatographia. 1982. V.15. No.10. P.653-656.
- Eckardt C.B., Pearce G.E.S., Keely B.J., Kowalewska G., Jaffe R., Maxwell J.R.* A widespread chlorophyll transformation pathway in the aquatic environment. //Organic Geochem. 1992. V.19. No.1-3. P.217-227.
- Edgington D., Klump J.V., Robbins J.A., Kusner Y.S., Pampura V.D., Sandimirov I.V.* Sedimentation rates, residence times and radionuclide inventories in Lake Baikal from ^{137}Cs and ^{210}Pb in sediment cores. //Nature. 1991. V.350. 18 April. P.601-604.
- Elliott S.P., Hale K.A.* Applications of an HPLC-DAD Drug-Screening System Based on Retention Indices and UV Spectra. //J.Analyt.Toxicology. 1998. V.22. P.279-289.
- Fabrizi D., Locatelli C., Tarabusi S.* A new procedure, based on combustion to sulphate and ion chromatography for the analysis of elemental sulfur in sediments. //Chromatographia. 2001. V. 53. №3/4. P.119-121.
- Farre M., Kloter G., Petrovic M., Alonso M.C., de Alda M.J.L., Barcelo D.* Identification of toxic compounds in wastewater treatment plants during a field experiment. //Analytica Chimica Acta. 2002. V.426. P.19-30.
- Ferrer I., Barcelo D.* Validation of new solid-phase extraction materials for the selective enrichment of organic contaminants from environmental samples. //Trends in Anal. Chem. 1999. V.18. No.3. P.180-192.
- Fitznar H.P., Lobbes J.M., Kattner G.* Determination of enantiomeric amino acids with high-performance liquid chromatography and pre-column derivatisation with *o*-phthaldialdehyde and *N*-isobutyrylcysteine in seawater and fossil samples (mollusks). //J. Chromatogr. A. 1999. V.832. P.123-132.
- Fladung N.C.* Optimization of automated solid phase extraction for quantitation of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous media by high performance liquid chromatography-UV detection. //J. Chromatogr. A. 1995. V.692. P.21-26.
- Font G., Manes J., Molto J.C., Pico Y.* Solid-phase extraction in multi-residue pesticide analysis of water. //J. Chromatogr. 1993. V.642. P.135-161.

- Fromme H., Kuchler T., Otto T., Pilz K., Muller J., Wenzel A.* Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. //Water Research. 2002. V.36. P.1429-1438.
- Furtmann K.* Phthalate in der aquatischen Umwelt. Dusseldorf: Landesamt fur Wasser und Abfall Nordrhein-Westfalen. LWA-Materialien. 1993. No.6. 177 s.
- Fytianos K., Pegiadou S., Raikos N., Eleftheriadis I., Tsoukali H.* Determination of non-ionic surfactants (polyethoxylated-nonylphenols) by HPLC in waste waters. //Chemosphere. 1997. V.35. No.7. P.1423-1429.
- Gaillard Y., Pepin G.* Use of high-performance liquid chromatography with photodiode array UV detection for the creation of a 600-compound library. Application to forensic toxicology. //J. Chromatogr. A. 1997. V.763. P.159-163.
- Galera M.M., Vidal J.L.M., Frenich A.G., Garcia M.D.G.* Evaluation of multiwavelength chromatograms for the quantification of mixture of pesticides by high-performance liquid chromatography – diode array detection with multivariate calibration. //J. Chromatogr. A. 1997. V.778. P.139-149.
- Giam C.S., Atlas E., Powers, Jr., M.A., Leonard J.E.* Phthalic Acid Esters. //The Handbook of Environmental Chemistry. Hutzinger O. (Ed.). V.3. Part C. Anthropogenic Compounds. Berlin: Springer-Verlag. 1984. P.67-142.
- Giam C.S., Chan H.S., Neff G.S., Atlas E.L.* Phthalate ester plasticizers: a new class of marine pollutant. //Science. 1978. V.199. 27 Jan. P.419-421.
- Gjerde D.T., Fritz J.S.* Ion chromatography. 2nd Edition. Heidelberg: Huthig. 1987. 283 pp.
- Goldberg E.L., Grachev M.A., Phedorin M.A., Kalugin I.A., Khlystov O.M., Mezentsev S.N., Azarova I.N., Vorobyeva S.S., Zheleznyakova T.O., Kulipanov G.N., Kondratyev V.I., Miginsky E.G., Tsukanov V.M., Zolotarev K.V., Trunova V.A., Kolmogorov Yu.P., Bobrov V.A.* Application of synchrotron X-ray fluorescent analysis to studies of the records of paleoclimates of Eurasia stored in the sediments of Lake Baikal and Lake Teletskoye. //Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. 2001. V. A 470, P.388-395.
- Gorshkov A.G., Azarova I.N., Baram G.I.* Analysis of elemental sulfur in sediments by reversed-phase high-performance liquid chromatography. //Chromatographia. 2001. V.54. No.7/8. P.545.
- Grob K.* On-line coupled LC-MS. Heidelberg: Huthig. 1991. 462 pp.
- Hai W., Chunxia W., Wenzhong W., Zheng M., Zijian W.* Persistent organic pollutants in water and surface sediments of Taihu Lake, China and risk assessment. //Chemosphere. 2003. V.50. P.557-562.
- Gunkel P., Fabre B., Prado G., Baliteau J.Y.* Ion chromatographic and voltammetric determination of heavy metals in soils. Comparison with atomic emission spectroscopy. //Analisis Magazine. 1999. V.27. P.823-828.

- Halasz A., Groom C., Zhou E., Paquet L., Beaulieu C., Deschamps S., Corriveau A., Thiboutot S., Ampleman G., Dubois C., Hawari J.* Detection of explosives and their degradation products in soil environments. //J. Chromatogr. A. 2002. V.963. P.411-418.
- Harrington C.F.* The Analysis of Environmental Metal Speciation Using LC-MS. //LC-GC Europe. 2000. V.13. No.6. P.420-427.
- Hatrik S., Tekel J.* Extraction methodology and chromatography for the determination of residual pesticides in water. //J. Chromatogr. A. 1996. V.733. P.217-233.
- Hill K.M., Hollowell R.H., Dal Cortivo L.A.* Determination on N-Methylcarbamate Pesticides in Well Water by Liquid Chromatography with Post-column Fluorescence Derivatization. //Anal. Chem. 1984. V.56. P.2465-2472.
- Holadova K., Hajslova J.* A comparison of different ways of sample preparation for the determination of phthalic acid esters in water and plant matrices. //Intern. J. Environ. Anal. Chem. 1995. V.59. P.43-57.
- Hollender J., Shneine J., Dott W., Heinzl M., Hagemann H.W., Gotz G.K.E.* Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from polluted soils with binary and ternary supercritical phases. //J. Chromatogr. A. 1997. V.776. P.233-243.
- Hu W., Haddad P.R.* Electrostatic ion chromatography using dilute electrolytes as eluents: a new method for separation anions. //Anal. Commun. 1998. V.35. P.317-320.
- Hu W., Haddad P.R., Hasebe K., Tanaka K.* Electrostatic ion chromatography of cations using an *N*-dodecylphosphocholine zwitterionic stationary phase and water as the mobile phase. //Anal. Commun. 1999. V.36. P.97-100.
- Iskandarani Z., Miller T.E.* Simultaneous independent analysis of anions and cations using indirect photometric chromatography. //Anal. Chem. 1985. V.57. P.1591-1594.
- Jaouen-Madoulet A., Abarnou A., Le Guellec A.-M., Loizeau V., Leboulenger F.* Validation of an analytical procedure for polychlorinated biphenyls, coplanar polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples. //J. Chromatogr. A. 2000. V.886. P.153-173.
- Jara S., Lysebo C., Greibrokk T., Lundanes E.* Determination of phthalates in water samples using polystyrene solid-phase extraction and liquid chromatography quantification. //Analytica Chimica Acta. 2000. V.407. P.165-171.
- Jinno K., Hayashida M., Watanabe T.* Computer-Assisted Liquid Chromatography for Automated Qualitative and Quantitative Analysis of Toxic Drugs. //J. Chromatogr. Science. 1990. V.28. P.367-373.
- Jones K.C., Alcock R.E., Sweetman A.* Assessment of organic contaminant fate in waste water treatment plants - I: Selected compounds and physicochemical properties. //Chemosphere. 1999. V.38. P.2247-2262.
- Jones V.K., Frost S.A., Tarter J.G.* Simultaneous ion chromatographic analysis of anions and mono- or divalent cations. //J. Chromatogr. Science. 1985. V.23. No.10. P.442-445.

Jonsson S., Boren H. Analysis of mono- and diesters of *o*-phthalic acid by solid-phase extractions with polystyrene–divinylbenzene-based polymers. //J. Chromatogr. A. 2002. V.963 P.393-400.

Jonsson S., Ejlertsson J., Ledin A., Mersiowsky L., Svensson B.H. Mono- and diesters from *o*-phthalic acid in leachates from different European landfills. //Water Research. 2003. V.37. P.609-617.

Kelly M.T., Larroque M. Trace determination of diethylphthalate in aqueous media by solid phase microextraction–liquid chromatography. //J. Chromatogr. A. 1999. V.841. P.177-185.

Kipp S., Peyrer H., Kleibohmer W. Coupling superheated water extraction with enzyme immunoassay for an efficient and fast PAH screening in soil. //Talanta. 1998. V.46. P.385-393.

Kira S., Sakano M., Nogami Y. Measurement of a Time-Weighted Average Concentration of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Aquatic Environment Using Solid Phase Extraction Cartridges and a Portable Pump. //Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1997. V.58. P.878-884.

Koves.E.M. Use of high-performance liquid chromatography–diode array detection in forensic toxicology. //J. Chromatogr. A. 1995. V.692. P.103-119.

Krivacsy Z., Kiss G., Varga B., Galambos I., Sarvari Z., Gelencser A., Molnar A., Fuzzi S., Facchini M.C., Zappoli S., Andracchio A., Alsberg T., Hansson H.C., Persson L. Study of humic-like substances in fog and interstitial aerosol by size-exclusion chromatography and capillary electrophoresis. //Atmospheric Environment. 2000. V.34. P.4273-4281.

Kucera P. Microcolumn HPLC. Amsterdam: Elsevier. 1984. 302 pp.

Kucklick J.R., Bidleman T.F., McConnell L.L. Organochlorines in the water and biota of Lake Baikal, Siberia. //Environ. Sci. and Technology. 1994. V.28. P.31-37.

Kucklick J.R., Harvey H.R., Ostrom R.H. Organochlorine dynamics in the pelagic food web of Lake Baikal. //Environ. Technology and Chemistry. 1996. V.15. No.8. P.1388-1400.

Lagana A., Bacaloni A., De Leva I., Faberi A., Fago G., Marino A. Occurrence and determination of herbicides and their major transformation products in environmental waters. //Analytica Chimica Acta. 2002. V.462. P.187-198.

Lai F., White L. Automated precolumn concentration and high-performance liquid chromatographic analysis of polynuclear aromatic hydrocarbons in water using a single pump and a single valve. //J. Chromatogr. A. 1995. V.692. P.11-20.

Lang M.J., Burns S.E. Improvement of EPA method 8330: complete separation using a two-phase approach. //J. Chromatogr. A. 1999. V.849. P.381–388.

Lawrence J.E. (Ed.). Liquid Chromatography in Environmental Analysis. Totowa (NJ): Humane Press. 1984. 374 pp.

- Lazar S., Herbreteau B., El Haddad M., Lafosse M., Akssira M., Dreux M.* Interest of indirect photometric detection in liquid chromatography of inorganic anions in natural waters. // *Analisis Magazine*. 1999. V.27. P.882-884.
- LeBlanc G.* A Review of EPA Sample Preparation Techniques for Organic Compound Analysis of Liquid and Solid Samples. // *LC-GC*. 2001. V.19. No.11. P.1120-1130.
- Lee H.S., Jeong C.K., Lee H.M., Choi S.J., Do K.S., Kim K., Kim Y.H.* On-line trace enrichment for the simultaneous determination of microcystins in aqueous samples using high-performance liquid chromatography with diode-array detection. // *J. Chromatogr. A*. 1999. V.848. P.179-184.
- Lee M.L., Novotny M.V., Bartle K.D.* Analytical chemistry of polycyclic aromatic compounds. New York: Academic Press. 1982.
- Li N., Lee H.K.* Solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water. Negative effect of humic acid. // *J. Chromatogr. A*. 2001. V.921. P.255-263.
- Liska I., Barcelo D., Grassrbauer M.* Strategy for the screening of organic pollutants in river basin – an overview of the Nitra river monitoring programme. // *Trends Analyt. Chem.* 1996. V.15. No.8. P.326-334.
- Liu Y., Lee M.L., Hageman K.J., Yang Y., Hawthorne S.B.* Solid-Phase Microextraction of PAHs from Aqueous Samples Using Fibers Coated with HPLC Chemically Bonded Silica Stationary Phases. // *Anal. Chem.* 1997. V.69. P.5001-5005.
- Luks-Betlej K., Popp P., Janoszka B., Paschke H.* Solid-phase microextraction of phthalates from water. // *J. Chromatogr. A*. 2001. V.938. P.93-101.
- Maier R.D., Bogusz M.* Identification Power of a Standardized HPLC-DAD System for Systematic Toxicological Analysis. // *J. Analyt. Toxicology*. 1995. V.19. P.79-83.
- Majors R.E.* Trends in Sample Preparation. // *LC-GC North America*. 2002. V.20. No.12. P.1098-1113.
- McDowell R.D.* Where did that peak come from? // *LC-GC International*. 1997. V.10. No.6. P.358-359.
- McGarvey B.D.* High-performance liquid chromatographic methods for the determination of N-methylcarbamate pesticides in water, soil, plants and air. // *J. Chromatogr.* 1993. V.642. P.89-105.
- Medvedovici A., David F., Sandra P.* Determination of the rodenticides warfarin, diphenadione and chlorophacinone in soil samples by HPLC-DAD. // *Talanta*. 1997. V.44. P.1633-1640.
- Möckel H.* The retention of sulfur homocycles in reversed-phase HPLC. // *Fresenius. Z. Anal. Chem.* 1984. V.318. No.5. P.327-334.
- Nagae N., Enami T., Doshi S.* The retention behavior of reversed-phase HPLC Columns with 100% aqueous mobile phase. // *LC-GC North America*. 2002. V.20. No.10. P.964-972.

- Naikwadi K.P., Rokushika S., Hatano H.* Liquid chromatography of phenolic compounds on a microbore anion exchange resin column. //Anal. Chem. 1984. V.56. No.8. P.1525-1527.
- Namera A., So A., Pawliszyn J.* Analysis of anatoxin-a in aqueous samples by solid-phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography with fluorescence detection and on-fiber derivatization. //J. Chromatogr. A. 2002. V.963. P.295-302.
- Niessen W.M.A.* Advances in instrumentation in liquid chromatography–mass spectrometry and related liquid-introduction techniques. //J. Chromatogr. A. 1988. V.794. P.407–435.
- Niessen W.M.A.* State-of-the-art in liquid chromatography–mass spectrometry. //J. Chromatogr. A. 1999. V.856. P.179–197.
- O'Connor G.A.* Organic compounds in sludge-amended soils and their potential for uptake by crop plants. //The Science of the Total Environment. 1996. V.185. P.71-81.
- Oehrle S.A., Westrick J.* Analysis of Various Cyanobacterial Toxins by LC-MS. //LC-GC Europe. 2002. V.11. P.2-6.
- Ohta K., Ohashi M., Takeuchi T.* Separation of common monovalent and divalent cations by ion chromatography on calcined silica gel cation-exchange stationary phases, with tyramine-oxalic acid-containing crown ether mobile phases and indirect photometric detection. //Chromatographia. 2003. V.57. No.3/4. P.155-160.
- Oikari A.O.J., Baram G.I., Grachev M.A., Evstafyev V.K.* Determination and Characterization of Chloroguaicol Conjugates in Fish Bile by HPLC. //Environmental Pollution. 1988. V.55. P.79-87.
- Orem W.H., Colman S.M., Lerch H.E.* Lignin phenols in sediments of Lake Baikal, Siberia: application to paleoenvironmental studies. //Org. Geochem. 1997. V.27. No.3/4. P.153-172.
- Penalver A., Pocurull E., Borrull F., Marce R.M.* Comparison of different fibers for the solid-phase microextraction of phthalate esters from water. //J. Chromatogr. A. 2001. V.922. P.377-384.
- Penalver A., Pocurull E., Borrull F., Marce R.M.* Determination of phthalate esters in water samples by solid-phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. //J Chromatog. A. 2000. V.872. P.191-201.
- Penner N.A., Nesterenko P.N., Ilyin M.M., Tsyurupa M.P., Davankov V.A.* Investigation of the properties of hypercrosslinked polystyrene as a stationary phase for high-performance liquid chromatography. //Chromatographia. 1999. V.50. No.9/10. P.611-620.
- Pensado L., Casais C., Mejuto C., Cela R.* Optimization of the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from wood samples by the use of microwave energy. //J. Chromatogr. A. 2000. V.869. P.505-513.
- Perkin-Elmer Cookbook: HPLC System for PAH analysis.* Norwalk: Perkin-Elmer. 1993. Order No. LC-292.

- Petrovic M., Eljarrat E., Lopez de Alda M.J., Barcelo D.* Analysis and environmental levels of endocrine-disrupting compounds in freshwater sediments. //Trends in Analytical Chemistry. 2001. V.20. P.637-648.
- Potjomkina T.G., Potjomkin V.L.* Study of the chemical composition of suspended particles in Lake Baikal. //Lakes & Reservoirs: Research and Management. 2000. No.5. P.133-136.
- Prokupková G., Holadová K., Poustka J., Hajšlová J.* Development of a solid-phase microextraction method for the determination of phthalic acid esters in water. //Analytica Chimica Acta. 2002. V.457. P.211-223.
- Przybyciel M., Majors R.E.* Phase collapse in reversed-phase LC. //LC-GC Europe. 2002. V.15. No.10. P.2-5.
- Rawling M.C., Turner A.* The behaviour of di-(2-ethylhexyl) phthalate in estuaries. //Marine Chemistry. 2000. V.68. P.203-217.
- Riekkola M.-L., Hyotylainen T.* Direct coupling of reversed-phase liquid chromatography to gas chromatography. //J. Chromatogr. A. 1998. V.819. P.13-24.
- Rioux V., Catheline D., Bouriel M., Legrand P.* High performance liquid chromatography of fatty acids as naphthacyl derivatives. //Analysis. 1999. V.27. P.186-193.
- Rivasseau C., Martins S., Hennion M.-C.* Determination of some physicochemical parameters of microcystins (cyanobacterial toxins) and trace level analysis in environmental samples using liquid chromatography. //J. Chromatogr. A. 1998. V.799. P.155-169.
- Rossi D.T., Zhang N.* Automating solid-phase extraction: current aspects and future prospects. //J. Chromatogr. A. 2000. V.885. P.97-113.
- Sarzanini C.* Recent developments in ion chromatography. //J. Chromatogr. A. 2002. V.956. P.3-13.
- Sauerland H.-D., Stadelhofer J. et al.* The analytical investigation of polynuclear aromatic hydrocarbons and heteroaromatics. //Erdöl und Kohle, Erdgas, Petrochem. vereinigt mit Brennstoffchemie. 1977. V.30. P.215-218.
- Shaw M.J., Hill S.J., Jones P., Nesterenko P.N.* High-performance chelation ion chromatography of transition and heavy metal ions on polystyrene-divinylbenzene resin dynamically modified with 4-chlorodipicolinic acid. //Anal. Commun. 1999. V.36. P.399-401.
- Schreiber A., Efer J., Engewald W.* Application of spectral libraries for high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure ionisation mass spectrometry to the analysis of pesticide and explosive residues in environmental samples. //J. Chromatogr. A. 2000. V.869. P.411-425.
- Schroeder D.C.* The analysis of nitrate in environmental samples by reversed-phase HPLC. //J. Chromatogr. Science. 1987. V.25. No.9. P.405-408.
- Schwarzenbach R.P., Gschwend P.M., Imboden D.M.* Environmental organic chemistry. New York: John Wiley & Sons, Inc. 1993. 661 pp.

- Schwedt G., Rössner B.* Ion chromatographic trace analysis of amperometrically detectable anions in water. //Z. Anal. Chem. 1987. V.327. P.499-502.
- Scott R.P.W. (Ed.)*. Small Bore Liquid Chromatography Columns: Their Properties and Uses. New York: Wiley. 1984. 271pp.
- Seppi T., Stubauer G., Obendorf D., Lukas P.* Direct Determination of Oxygen by HPLC. 2. Chamber and Sample Application System for Determination of O₂ at Trace Levels. //Anal. Chem. 1997. V.69. P.4476-4481.
- Seubert A., Klingenberg A.* Sulfoacylated macroporous polystyrene-divinylbenzene: a new type of cation exchanger for the analysis of multivalent metal cations. //J. Chromatogr. A. 1997. V.782. P.149-157.
- Sharpe M.* Phthalates: a ban too far. //J. Environmental Monitoring. 2000. No.001 & 002. P. 4N-7N.
- Silliman J.E., Meyers P.A., Eadie B.J.* Perylene: an indicator of alteration processes or precursor materials? //Organic Geochemistry. 1998. V.29. No.5-7. P.1737-1744.
- Slobodnik J., Hogenboom A.C., Louter A.J.H., Brinkman U.A.T.* Integrated system for on-line gas and liquid chromatography with a single mass spectrometric detector for the automated analysis of environmental samples. //J. Chromatogr. A. 1996. V.730. P.353-373.
- Small H., Miller T.E.* Indirect photometric chromatography. //Anal. Chem. 1982. V.54. P.462-469.
- Smith M., Collins G.E., Wang J.* Microscale solid-phase extraction system for explosives. //J. Chromatogr. A. 2003. V.991. No.2. P.159-167.
- Soma Y., Imaizumi T., Yagi K., Kasuga S.* Estimation of algal succession in lake water using HPLC analysis of pigments. //Canadian J. Fishing and Aquatic Sci. 1993. V.50. No.6. P.1142-1146.
- Soma Y., Tanaka A., Soma M., Kawai T.* Photosynthetic pigments and perylene in the sediments of southern basin of Lake Baikal //Organic Geochem. 1996. V.24. No.5. P.553-561.
- Stalikas C.D., Konidari C.N.* Analytical methods to determine phosphonic and amino acid group-containing pesticides. //J. Chromatogr. A. 2001. V.907. P.1-19.
- Stan H.-J.* Analysis of Pesticides in Ground and Surface Water. Germany: Springer. 1995. V. I (268pp), V. II (228pp).
- Staples C.A., Peterson D.R., Parkerton T.F., Adams W.J.* The environmental fate of phthalate esters: a literature review. //Chemosphere. 1997. V.35. P.667-749.
- Staples C.A., Peterson D.R., Parkerton T.F.* A risk assessment of selected phthalate esters in North American and Western European surface waters. //Chemosphere. 2000. V.40. P.885-891.
- Strauss R., Steudel R.* Schnelle chromatographische Trennung und Bestimmung der Schwefel-Homocyclen S_n (n=6-28) mittels HPLC //Fresenius. Z. Anal. Chem. 1987. V. 326. No.6. P. 543-546.

Stubauer G., Seppi T., Lukas P., Obendorf D. Direct Determination of Oxygen by HPLC. 1. Basic Principles of a Sensitive and Selective Oxygen Sensor. //Anal. Chem. 1997. V.69. P.4469-4475.

Suna F., Littlejohn D., Gibson M.D. Ultrasonication extraction and solid phase extraction clean-up for determination of US EPA 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet absorption detection. //Analytica Chimica Acta. 1998. V.364. P.1-11.

Sushchik N.N., Gladyshev M.I., Kalachova G.S., Guseynova V.E. Rapid assay of fatty acid composition using a portable high-performance liquid chromatograph for monitoring of aquatic ecosystems. //J. Chromatogr. A. 1995. V.695. P.223-228.

Tang D., Santschi P.H. Sensitive determination of dissolved sulfide in estuarine water by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography of methylene blue. //J. Chromatogr. A. 2000. V.883. P.305-309.

Tani Y., Kurihara K., Nara F., Itoh N., Soma M., Soma Y., Tanaka A., Yoneda M., Hirota M., Shibata Y. Temporal changes in the phytoplankton community of the southern basin of Lake Baikal over the last 24,000 years recorded by photosynthetic pigments in a sediment core. //Organic Geochem. 2002. V.33. P.1621-1634.

Tarter J.G. Ion chromatography. New York: Dekker. 1987. 448 pp.

Tsyurupa M.P., Ilyin M.M., Andreeva A.I., Davankov V.A. Use of the hyper-crosslinked polystyrene sorbents "Styrosorb" for solid phase extraction of phenols from water. //Fresenius J. Anal. Chem. 1995. V. 352. P.672-675.

Valcarcel M., Cardenas S., Gallego M. Sample screening systems in analytical chemistry. //Trends in Analyt. Chem. 1999. V.18. No.11. P.685-694.

Van der Heeft E., Dijkman E., Baumann R.A., Hogendoorn E.A. Comparison of various liquid chromatographic methods involving UV and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometric detection for the efficient trace analysis of phenylurea herbicides in various types of water samples. //J. Chromatogr. A. 2000. V.879. P.39-50.

Vikelsee J., Thomsen M., Carlsen L. Phthalates and nonylphenols in profiles of differently dressed soils. //The Science of the Total Environment. 2002. V.296. P.105-116.

Vitali M., Guidotti M., Macilenti G., Cremisini C. Phthalate esters in freshwaters as markers of contamination sources – a site study in Italy. //Environment Internat. 1997. V.23. No.3. P.337-347.

Vo-Dinh T., Fetzer J., Campiglia A.D. Monitoring and characterisation of polyaromatic compounds in the environment. //Talanta. 1998. V.47. P.943-969.

Walker T.A. The separation of organic analyte cations on a low-capacity cation exchange column using indirect UV detection. //J. Liquid Chromatogr. 1988. V.11. No.7. P.1513-1530.

Weiss R.F., Carmack E.C., Koropalov V.M. Deep-water renewal and biological production in Lake Baikal. //Nature. 1991. V.349. P.665-669.

- Weißhoff H., Preiß A., Nehls I., Win T., Mügge C.* Development of an HPLC-NMR method for the determination of PAHs in soil samples – a comparison with conventional methods. //Anal Bioanal Chem. 2002. V.373. P.810–819.
- White S., Catterick T., Fairman B., Webb K.* Speciation of organo-tin compounds using liquid chromatography– atmospheric pressure ionisation mass spectrometry and liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry as complementary techniques. //J. Chromatogr. A. 1998. V.794. P.211–218.
- Wissack R., Rosenberg E.* Universal screening method for the determination of US 21 Environmental Protection Agency phenols at the lower ng l level in water samples by on-line solid-phase extraction–high performance liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry within a single run. //J. Chromatogr. A. 2002. V.963. P.149-157.
- Woodfine D., MacLeod M., Mackay D.* A regionally segmented national scale multimedia contaminant fate model for Canada with GIS data input and display. //Environmental Pollution. 2002. V.119 P.341-355.
- Wu F.C., Evans R.D., Dillon P.J.* High-performance liquid chromatographic fractionation and characterization of fulvic acid. //Analytica Chimica Acta. 2002. V.464. P.47-55.
- Yergey A.L., Edmonds C.G., Lewis I.A.S., Vestal M.L.* Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. New York: Plenum Press, 1990. 306 pp.
- Yuan S.Y., Liu C., Liao C.S., Chang B.V.* Occurrence and microbial degradation of phthalate esters in Taiwan river sediments. //Chemosphere. 2002. V.49. P.1295-1299.
- Zhou J.L., Liu Y.P.* Kinetics and equilibria of the interactions between diethylhexyl phthalate and sediment particles in simulated estuarine systems. //Marine Chemistry. 2000. V.71. P.165-176.