
Накопление диоксинов земляными червями *Lumbricus terrestris* в России

Д. А. Криволицкий,
Н. Г. Курамшина,
З. К. Амирова,
Н. В. Лебедева,
З. К. Курамшин

Институт паразитологии РАН,
Москва, Россия

Диоксины и дибензофураны значительно накапливаются земляными червями из почвы с коэффициентами биоаккумуляции 3–8,7 в очагах загрязнения в районе г. Уфы; при удалении от источника загрязнения на 5 и 10 км концентрация диоксидов в червях падает почти в 2 и в 3 тысячи раз.

Ключевые слова: диоксины, земляные черви *Lumbricus terrestris*

ВВЕДЕНИЕ

Диоксины – полихлорированные дибензопарадиоксины (ТХДД) и дибензофураны (ПХДФ) – являются супертоксикантами и оказывают сильное индуцирующее или ингибирующее действие на ферменты, повышая у людей и животных чувствительность к окружающим ксенобиотикам, а также подавляя клеточный иммунитет [11, 14].

Источниками эмиссии диоксинов в окружающую среду являются предприятия химической, целлюлозно-бумажной и металлургической промышленности, установки по сжиганию токсичных отходов, свалки бытовых и промышленных отходов, выхлопные газы автомобильного транспорта [11, 15].

В результате изучения загрязнения почвенного покрова стран Европы и Северной Америки полихлорированными дибензодиоксинами было установлено, что степень загрязнения почвы зависит от уровня техногенной нагрузки. Обобщенные данные фонового уровня для Европы и Северной Америки соответственно составляют $8,69 \pm 4,7$ нг/кг ($n = 133$); $7,96 \pm 5,7$ нг ТЕQ/кг ($n = 95$) [6]. В случае экстремального загрязнения почвы вследствие промышленных аварий или применения гербицидов, содержащих ПХДД и ПХДФ, максимальные концентрации изомера 2, 3, 7, 8-ТХДД составляют 900–874000 нг/кг. Самые высокие уровни диоксинового загрязнения установлены в местах складирования отходов производства 2, 4, 5-Т [5].

Для оценки последствий диоксинового загрязнения почвенного покрова исследована возможность перехода супертоксиканта из почвы в растения. С этой целью на 123 видах различных растений проведены полевые испытания на загрязненных почвах (1–172 нг/кг), обработанных гербицидом 2, 4, 5-Т, содержащим высокотоксичный изомер 2, 3, 7, 8-ТХДД. Показано, что имеет место загрязнение корневой системы, а для стеблей, листьев и плодов это не характерно [3, 9]. В контролируемых экспериментах в натуральных условиях с морковью, луком и картофелем установлено, что коэффициент биоаккумуляции изомера 2, 3, 7, 8-ТХДД существенно ниже единицы, т. е. перенос диоксина из почвы в растения незначителен. Обычно в наземных растениях концентрация ПХДД/ПХДФ не превышает 0,1% от их содержания в почве. В то время как для водных растений (водоросли, ряска, рдест) в загрязненной воде наблюдается биоконцентрирование.

В этой связи вполне вероятно, что применение для биоиндикации ПХДД/ПХДФ биоты, для которой среда обитания одновременно является источником питания, может быть весьма информативным. Проблема имеет важное прикладное значение, которое было всесторонне показано при экологической и медицинской оценке последствий химической войны США во Вьетнаме.

В России понимание потенциальной опасности диоксинового загрязнения живой при-

роды пришло достаточно давно; были выполнены исследования по миграции диоксинов по пищевым цепям от воды и почвы к птицам [4, 10], где основным аккумулирующим звеном выступали земляные черви (*Nicodrilus roseus*, *Lumbricus terrestris*).

В настоящей работе для индикации диоксинового загрязнения почвенного покрова использованы дождевые черви, для которых почва является средой обитания, а ее органические вещества – пищей. Известно, что за сутки каждый червь пропускает через кишечник количество пищи, равное его весу. Важным обстоятельством является и значительное содержание жиров в биомассе земляных червей [12], что способствует растворению в жирах диоксинов и пестицидов и их накоплению в биомассе. Работа выполнена в Республике Башкортостан (Россия), в окрестностях г. Уфы, где диоксиновое загрязнение является печальной реальностью [8]. В литературе описана патология диоксинового загрязнения почв для земляных червей в лабораторных экспериментах [2].

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Для количественного химического анализа полихлорированных дибензопарадиоксинов и дибензофуранов применен метод изотопного разбавления с высокоразрешающей масс-спектрометрией по методу Федерального агентства по охране окружающей среды N 1613 “Tetra-throth Octa-clorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution”, Revision. A, 1994. Степень извлечения изомеров ПХДД/ПХДФ оценивалась по стандарту извлечения смеси $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 4-ТХДД и $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 7, 8, 9-ГсХДД (по 100 пг/мкл каждой), вводимой непосредственно перед анализом пробы. В соответствии с требованиями методики EPA 1613 она составляла 25–125% со средним уровнем 60–90%. Степень потери на стадии очистки оценивалась по стандарту $^{37}\text{Cl}_4$ – 2, 3, 7, 8-ТХДД. Количественная оценка содержания нативных изомеров ПХДД/ПХДФ производилась по внутреннему стандарту – набору из шестнадцати изотопно-меченых аналогов токсичных ПХДД/ПХДФ, содержащему по 100 пг/мкл $^{13}\text{C}_{12}$ -изомеры–2, 3, 7, 8-ТХДД; 2, 3, 7, 8-ТХДФ; 1, 2, 3, 7, 8-ПнХДД; 1, 2, 3, 7, 8-, 2, 3, 4, 7, 8-ПнХДФ; 1, 2, 3, 4, 7, 8-, 1, 2, 3, 6, 7, 8-, 1, 2, 3, 7, 8, 9-ГсХДД; 1, 2, 3, 4, 7, 8-, 1, 2, 3, 6, 7, 8-, 1, 2, 3, 7, 8, 9-, 2, 3, 4, 6, 7, 8-ГсХДФ; 1, 2, 3,

4, 6, 7, 8-ГпХДД; 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-, 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-ГпХДФ и по 200 пг/мкл ОХДД.

Изомерспецифический анализ полихлорированных дибензопарадиоксинов осуществлен с использованием измерительной системы, состоящей из хроматографа Carlo Erba 8035 (Италия, 1993) и масс-спектрометра высокого разрешения Autospec-Ultima (VG) (Великобритания, 1992) в режиме электронного удара (36 eV) с разрешением $\geq 10\ 000$. Для установления массовых чисел применялся перфторкеросин, регистрация молекулярных ионов осуществлялась для нативных и изотопно-меченых изомеров ПХДД и ПХДФ.

Изомеры ПХДД/ПХДФ разделялись на неполярной капиллярной колонке DB-5MS J & W Scientific, длиной 60 м с толщиной пленки фазы (5%-фенил-метилполисилоксана) 0,25 мкм, газ-носитель – гелий. Температурный режим: 140°C (1 мин), повышение до 220°C со скоростью 15 град/мин, 220°C (20 мин), повышение до 300°C со скоростью 4 град/мин, 300°C (15 мин). Обработка данных производилась с использованием специализированного пакета программ OPUS.

Биоаккумуляция ПХДД и ПХДФ изучалась на представителях педобионтов – *Lumbricus terrestris* (тип Annelida, п/тип Clitella, кл. Oligochaeta, отр. Lumbricomorpha). Отбор животных проводили с верхних слоев почвы на глубине 10 см в импактной зоне.

Почва отбиралась согласно ГОСТу 17. 4. 3. 01–83 на импактных и фоновых участках по методу конверта, на глубине до 10 см в местах сбора дождевых червей.

Для извлечения диоксинов из почвы образец (10 г) высушивали, измельчали и вносили стандарт изотопно-меченых ПХДД/ПХДФ, затем осуществляли экстракцию в ультразвуковой ванне смесью ацетон-дихлорметан. Экстракт фильтровали, прибавляли 100 мл гексана, кипятили с дефлегматором, затем раствор упаривали, промывали серной кислотой и водой. Экстракт высушивали безводным сульфатом натрия и упаривали до объема 10 мл. Далее экстракт ПХДД/ПХДФ очищали пропусканием через колонки с силикагелем (КСКГ), оксидом алюминия и активным углем [14].

У представителей *Annelida* (*Lumbricus terrestris*) освобождали кишечник от почвы и замораживали [1]. Сборная проба составляла 100 г. После гомогенизации и деструкции тканей проводилась депротеинизация. Навеску биопробы 2 г и 20 г Na_2SO_4 перемешивали и

набивали колонку вместе с изотопно-мечеными стандартными соединениями.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На территории г. Уфы (Россия) более пятидесяти лет действовало крупнотоннажное производство хлорированных углеводородов. Сжигание хлорорганических отходов этого производства сопровождалось эмиссией полихлорированных дибензопарадиоксинов и дибензофуранов в атмосферу и привело к загрязнению городской территории [13, 14]. В пробах почвы были обнаружены ПХДД и ПХДФ различного строения, изомерный состав которых представлен в работе [7].

Результаты анализа проб почвы, взятых на территории химического предприятия ([ПХДД + ПХДФ] = 989 нг/кг) и за ее пределами при удалении от источника загрязнения вдоль автотрассы в черте города на расстояние 0,2 км ([ПХДД + ПХДФ] = 192 нг/кг), 5 км ([ПХДД + ПХДФ] = 144 нг/кг), 10 км ([ПХДД + ПХДФ] = 0,34 нг/кг), 20 км ([ПХДД + ПХДФ] = 0,24 нг/кг), свидетельствовали о понижении общего содержания ПХДД и ПХДФ в почвенном покрове. Высокий уровень концентрации ПХДД и ПХДФ в почве городской территории, удаленной на значительное расстояние от химического предприятия, указывает на наличие других источников их образования. Существенный вклад в диоксиновое загрязнение могут вносить выхлопные газы автомобильных двигателей, работающих на этилированном бензине. Об этом свидетельствуют результаты анализа снежного покрова на содержание ПХДД + ПХДФ на стоянках автотранспорта (автовокзал) и в местах его интенсивного движения (городские перекрестки) ([ПХДД + ПХДФ] = 0,336–0,395 нг/кг), при этом имеет место значительное превышение общегородского уровня загрязнения снега полихлорированными дибензопара-

диоксидами и дибензофуранами ([ПХДД + ПХДФ] = 0,030–0,043 нг/кг).

В целях определения перехода супертоксичных ПХДД и ПХДФ из почвы в живые организмы изучена их биоаккумуляция естественными представителями почвенной фауны – *Lumbricus terrestris* в зоне максимального загрязнения (химический завод) и в разных точках городской территории. Установлено, что дождевые черви весьма чувствительны по отношению к токсикантам, их токсическое действие выражается в уменьшении морфометрических показателей биоиндикаторов. В тканях дождевых червей обнаружено 7 изомеров ПХДД и 10 изомеров ПХДФ, наибольшая концентрация характерна для тетра- и пентахлорпроизводных, обладающих наибольшей токсичностью [14]. Результаты пересчета коэффициентов перехода ПХДД и ПХДФ из почвы в тест-животных представлены в таблице. Из полученных данных следует, что коэффициенты биоаккумуляции наиболее токсичных соединений (1, 2, 3, 8, 9, 10) имеют довольно высокое значение и изменяются в интервале 3,03–8,73. Показатели биоаккумуляции ПХДД и ПХДФ дождевыми червями зависят от их концентрации в почве. При удалении от источника загрязнения на 5 и

Таблица. Концентрация ПХДД, ПХДФ в *Lumbricus terrestris* и почве на территории химического завода

№	Изомеры	Концентрация, нг/кг		Коэффициент биоаккумуляции
		почва	<i>Lumbricus terrestris</i>	
ПХДД				
1	2, 3, 7, 8-ТХДД	993,6	7446,1	7,49
2	1, 2, 3, 7, 8-П ₃ ХДД	283,5	2475,7	8,73
3	1, 2, 3, 4, 7, 8-Г ₆ ХДД	139,9	910,8	6,51
4	1, 2, 3, 6, 7, 8-Г ₆ ХДД	254,8	585,5	2,30
5	1, 2, 3, 7, 8, 9-Г ₆ ХДД	136,6	280,1	2,05
6	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-Г ₇ ХДД	1476,3	1511,9	1,02
7	ОХДД	64000	33 333,3	0,52
ПХДФ				
8	2, 3, 7, 8-ТХДФ	536,4	4107,6	7,66
9	1, 2, 3, 7, 8-П ₃ ХДФ	352,8	1868,7	5,30
10	2, 3, 4, 7, 8-П ₃ ХДФ	362,2	1098,7	3,03
11	1, 2, 3, 4, 7, 8-Г ₆ ХДФ	2616	5124,0	1,96
12	1, 2, 3, 6, 7, 8-Г ₆ ХДФ	357,4	166,1	0,46
13	1, 2, 3, 7, 8, 9-Г ₆ ХДФ	217,9	143,5	0,66
14	2, 3, 4, 6, 7, 8-Г ₆ ХДФ	252,6	426,6	1,69
15	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-Г ₇ ХДФ	4282,5	4440,7	1,04
16	1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-Г ₇ ХДФ	1845,4	1354,3	0,73
17	ОХДФ	58000	30,5	0,00
18	I-TEQ	1983,4	10637	5,36

10 км содержание наиболее токсичного изомера (2, 3, 7, 8-ТХДД) в почве уменьшается в 1839 и 2920 раз, однако это сопровождается увеличением коэффициента биоаккумуляции соответственно от 7,5 до 14,3 и 26,5. Следовательно, *Lumbricus terrestris* являются биоконцентраторами ПХДД и ПХДФ и позволяют повысить эффективность изучения загрязнения почвенного покрова данными супертоксикантами.

Поступило
09.07.2002

Литература

1. Atuma S., Zettermark S., Hausson L. // *Organohalogen Compounds*. 1995. Vol. 23. P. 31–34.
2. Fitzpatrick L. C., Sassani R., Venables B. J., Goven A. J. Comparative toxicity of polychlorinated biphenyls to earthworms *Eisenia foetida* and *Lumbricus terrestris*. *Environment Pollution*. 1992. Vol. 77. P. 65–69.
3. Young A., Thalken C., Harrison D. Persistence, bioaccumulation and toxicity of TCDD in an ecosystem threatened with massive quantities of 2, 4, 5-T herbicide. *Proc. West. Soc. Weed Sci.* 1981. Vol. 37. P. 70–71.
4. Lebedeva N. V., Minkina T. M. Toxicant concentration in a terrestrial food-web in South-West Russia. *Pollution-induced changes in soil invertebrate food-webs*. Publ. by the Department of Ecology and Ecotoxicology, Vrije University, Amsterdam, the Netherlands, 1998. P. 99–106.
5. Sievers S., Friesel P. Soil contamination patterns of chlorinated organic compounds: Voking the source. *Chemosphere*. 1989. Vol. 19(1–6). P. 691–698.
6. USEPA. Estimated Exposure to Dioxin-Line Compounds, V. I–III. Extremal Review Droft. Us/ Environmental Protection Agency. Office of Research and Revelopment: Washington. D. C., 1994. EPA/600/6-88/005Ca.
7. Амирова З., Круглов Э., Ложкина Е., Халиков Р. Уровни PCDD/PCDF в питьевой и поверхностных водах Республики Башкортостан. *Organohal. Comp.* 1997. Vol. 32. P. 107–111.
8. Амирова З. К., Круглов Э. А. Ситуация с диоксинами в республике Башкортостан. Уфа: Гос. Изд-во „Реактив“, 1998, 115 с.
9. Клисенко М. А., Александрова Л. Г. Определение остаточных количеств пестицидов. Киев: Здоровье, 1983. 248 с.
10. Лебедева Н. В. Экотоксикология и биогеохимия географических популяций птиц. Москва: Наука, 1999. 240 с.
11. Майстренко В. Н., Хамитов Р. З., Будников Г. К. Эколого-аналитический мониторинг супертоксикантов. Москва, 1996. 319 с.
12. Покаржевский А. Д. Геохимическая экология наземных животных. Москва: Наука, 1985. 300 с.
13. Ситуация с диоксинами и родственными соединениями в Башкортостане / Итоговый отчет по результатам выполнения респ. прогр. „Диоксин“. Уфа, 1994. ИПЭПБ. 37 с.
14. Соколов В. Е., Бочаров В. В., Кривоуцкий Д. А. Экотоксикология и проблемы защиты окружающей среды от загрязнения. *Экотоксикология и охрана природы*. Москва: Наука, 1988. С. 4–28.
15. Федоров Л. А. Диоксины как экологическая опасность: ретроспектива и перспективы. Москва: Наука, 1993. 266 с.

D. A. Krivolutsky, N. G. Kuramshina, Z. K. Arimova,
N. V. Lebedeva, Z. K. Kuramshin

THE ACCUMULATION OF DIOXINS AND POLYCHLORINATED BIPHENYLS TO EARTHWORMS *LUMBRICUS TERRESTRIS* IN RUSSIA

S u m m a r y

Effects of accumulation of dioxins and polychlorinated biphenyls (PCB) in environment of Ufa town have been investigated. The concentration differs from 7446–1868 ng/kg in living biomass on territory of chemical plant to 426–1098 ng/kg on 5 km distance and 143–280 ng/kg on 10 km distance from plant.

Key words: dioxins, earthworms *Lumbricus terrestris*