

УДК 631.445.41

## ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕСТРУКЦИИ ПОЛИХЛОРБИФЕНИЛОВ НАТРИЕВЫМИ СОЛЯМИ АМИНОКИСЛОТ И ГУМИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ В ПОЧВАХ

©2013 Д.В. Демин, Д.Ю. Аладин, И.В. Татаркин, С.М. Севостьянов, Н.Ф. Деева, А.А. Ильина

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино

Поступила 26.06.2013

Изучено взаимодействие полихлорбифенилов (ПХБ) в почвах с щелочным аминокислотным реагентом (NaL) и гуминовыми кислотами. По данным ИК-спектроскопии выявлено межмолекулярное взаимодействие ПХБ с реагентом NaL. Методами хроматографии и ИК-спектроскопии установлена трансформация и отщепление хлора в ароматическом кольце макромолекул ПХБ под влиянием аминокислотного реагента. В серой лесной почве деструкции подвергается от 32 до 77% ПХБ в зависимости от концентрации реагента и кратности внесения его в почвенные образцы.

**Ключевые слова:** полихлорированные бифенилы, серая лесная почва, натриевые соли аминокислот, гуминовые вещества.

Полихлорированные бифенилы (ПХБ) - стойкие хлорорганические соединения, в 1000 и более раз менее токсичны, чем «эталоны» супертоксикантов – диоксины, но содержание и распространение их в окружающей среде многократно выше [1, 2]. Поэтому разработка методов детоксикации ПХБ в почвах в настоящее время весьма актуальна и востребована.

Во многих промышленно развитых странах большие площади почв загрязнены диоксинами и диоксиноподобными соединениями, в том числе ПХБ [4-6]. ПХБ легко адсорбируются поверхностным слоем почвы, причем преимущественно на илисто-гумусовых фракциях и проявляют высокую устойчивость к физико-химическому и биологическому разложению. В общем случае длительность сохранения хлорорганических соединений (ХОС) в почвах определяется как интенсивностью процессов деградации, так и потерями за счет испарения и кодистилляции с почвенной влагой.

В настоящее время для детоксикации ПХБ в почвах используют различные методы и технологии: физико-химические методы, основанные на промывке почв, экстракции растворителями, применении электрокинетических процессов; методы термической санации [1,4,7]. При этом чаще всего для детоксикации ПХБ применяют микробиологические методы, основанные на использовании специальных штаммов-грибков и микроорганизмов [8-10]. Однако микробиологические методы имеют низкую эффективность и высокую стоимость, и весьма актуальной становится проблема контроля

возможной мутации микроорганизмов, что делает целесообразность их внесения в природные среды весьма проблематичной.

В последнее время большой интерес вызывают химические методы деструкции ПХБ. В литературе [8,9,11] приводятся результаты по деструкции ПХБ в почвах полиэтиленгликолем калия (ПЭГК). Смешивание в равных объемах загрязненной почвы и ПЭГК, нагретого до 150<sup>0</sup>С, приводит к уменьшению содержания ПХБ более чем на 99%.

Результаты экспериментов, проведенными в лабораторных условиях, по обработке загрязненной ПХБ почвы реагентом NaВН<sub>4</sub>, с выдержкой от 3,5 до 30 час, показали уменьшение уровня загрязнения с 2600 мг/кг до <0,2 мг/кг. Конечными продуктами взаимодействия ПХБ и реагента в этом случае были бифенил, NaCl и борная кислота. Вышеописанные химические способы детоксикации ПХБ в почвах проведены в модельных экспериментах, т.е. в искусственно загрязненных почвах. Методы по химической деструкции ПХБ *in situ* отсутствуют.

Внесение гумусовых веществ значительно снижает содержание ПХБ в загрязненной почве за один вегетационный период [2]. Кроме того, стоимость санации и детоксикации с применением гуматов, ниже стоимости микробиологических методов [2].

Однако в случае применения гуматов для биоремедиации почв, загрязненных ПХБ, неясна дальнейшая судьба образующихся комплексов.

Следовательно, все рассмотренные выше методы детоксикации ПХБ имеют те или иные недостатки. Поэтому поиски эффективных способов и реагентов деструкции ПХБ и более полной детоксикации их в загрязненных почвах и остается насущной проблемой.

Цель работы – исследование взаимодействия полихлорбифенилов с аминокислотным реагентом и гуминовыми веществами в загрязненной почве методами ИК-спектроскопии и газо-жидкостной хроматографии.

Демин Дмитрий Викторович, научный сотрудник, e-mail: dmitriy\_demin@ Rambler.ru; Аладин Данила Юрьевич, младший научный сотрудник, e-mail: aladin-danila@ Rambler.ru; Татаркин Иван Владимирович, научный сотрудник, e-mail: ivantatarikin2005@ Rambler.ru; Севостьянов Сергей Михайлович, к.б.н., ведущий научный сотрудник, e-mail: Sevost2000@ Rambler.ru; Деева Надежда Филипповна, старший научный сотрудник, e-mail: ndeeva@ Rambler.ru; Ильина Алевтина Алексеевна, научный сотрудник, e-mail: alevtinaili@ Rambler.ru

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Известно, что хлорорганические соединения способны взаимодействовать с производными первичных и вторичных аминов, в том числе с простыми и сложными аминокислотами. Внесение гумусовых веществ значительно снижает содержание ПХБ в загрязненной почве.

Источником аминокислот послужил реагент, который представляет собой щелочной гидролизат, получаемый из отходов кожевенного и мехового производства, основная составляющая которого – натриевые соли аминокислот (NaL).

Для изучения возможности использования гуминовых веществ при ремедиации почв загрязненных ПХБ были выделены из серой лесной почвы (Московская область) гуминовые кислоты.

Для подтверждения эффекта детоксикации и возможности применения аминокислотной композиции для обработки почв, загрязненных полихлорированными бифенилами, была проведена серия экспериментов, которые можно разделить на две части – модельные в лабораторных условиях и опыты в реальных условиях загрязненных почв.

Гуминовые вещества (ГВ) были выделены по методикам, рекомендованным международным сообществом по исследованию гуминовых веществ [3].

Образцы почв из поверхностных гумусированных горизонтов почв опорных разрезов в бассейне ручья Боровлянки (г. Серпухов) были высушены до воздушно-сухого состояния. Затем навески по 1 кг поместили в эксикаторы и увлажнили до 60-70% от НВ (наименьшей влагоемкости), тщательно перемешали, закрыли крышкой. Почвенные образцы периодически перемешивали в течение 4 дней для равномерного увлажнения.

На следующем этапе из каждого образца были отобраны по 2 навески по 200 г в пересчете на абсолютно-сухой вес, помещены в контейнеры и обработаны различными дозами NaL и ГВ.

Расчет доз проводили по итогам предварительных экспериментов с искусственно загрязненным песком, в котором эффект деструкции оценивали определением хлорид-ионов аргентометрическим методом по Мору. Опыт на песке позволил избежать прокрашивания водной вытяжки, неизбежно происходящем при обработке почвы за счет экстракции органического вещества почвы. Была проведена обработка двумя вариантами доз: вариант 1 – по 17 мл раствора NaL в первую повторность каждого образца (85 мл/ кг), вариант 2 – по 34 мл раствора NaL (2 моль/л) во вторую повторность каждого образца (170 мл/кг), вариант 3-15 мл раствора ГВ (1 моль/л).

Образцы тщательно перемешали, оставили для прохождения реакции взаимодействия между солями NaL и ПХБ на 10 дней, периодически перемешивали.

В последующем в эти образцы определялось содержание ПХБ. Параллельно в исходных образцах почв проводилось определение pH, общего углерода и азота, гумуса, гранулометрического состава.

Эффект деструкции ПХБ аминокислотным реагентом в субстратах оценивали несколькими методами: структурные изменения молекул ПХБ методом Фурье-спектроскопии; содержание суммы ПХБ методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ) с использованием стандартов, а определение конгенов ПХБ – методами ГЖХ/МСНР (масс-спектрометрия низкого разрешения) или ГЖХ/МСВР (масс-спектрометрия высокого разрешения).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Некоторые данные о физико-химических свойствах исследованных почв приведены в таблице 1. Для всех образцов отмечено некоторое подщелачивание почвенного раствора, что характерно для городских почв [2, 9]. По гранулометрическому составу образцы 1 и 3 относятся к легким суглинкам, а образец 2 – к средним суглинкам.

Результаты анализов на содержание ПХБ в почвенных образцах до и после обработки NaL и ГВ приведены в таблице 2. Было определено, что содержание ПХБ во всех образцах уменьшилось в несколько раз.

При обработке почв реагентом дозой 85 мл/кг (вариант 1) содержание ПХБ в первом образце снизилось в 4,2 раза, во втором образце в 4,3, а в третьем – в 25,2 раза соответственно. При обработке двойной дозой реагента (170 мл/кг) для первого и второго образцов получили примерно те же данные. Этот факт объясняется тем, что обработка всех трех образцов реагентом проводилось без результатов лабораторного определения ПХБ в данных почвах (анализы были получены позже). Одинаковое количество неразрушенного ПХБ в первом и втором образце при двух дозах NaL может свидетельствовать о том, что данное количество ПХБ жестко связано с минеральной частью или гумусовым веществом почвы. Однако по содержанию гумуса эти почвы сильно различаются, поэтому можно предположить, что происходит сорбция этого количества ПХБ минеральной частью почвы, вследствие чего оно не доступно для химического разрушения. Можно сделать вывод, что доза 85 мл/кг приводит к деструкции всего химически доступного количества ПХБ за данное время экспозиции (10 сут). Можно предположить, что доза реагента 85 мл/кг, внесенная в загрязненный образец в несколько приемов в течение более длительного времени, позволит более полно разрушить оставшееся количество ПХБ. К тому же оставшиеся концентрации ПХБ ниже ПДК, поэтому в данном случае можно говорить о восстановлении почв.

**Таблица 1.** Физико- химические свойства верхних горизонтов почв

№ разреза	Глубина отбора проб, см	Общий углерод, %	Гумус, %	рН водный	Азот общий, %	Гранулометрический состав	
						(частиц < 0,01 мм), %	(частиц >0,01 мм)
1	0-10	1,74	3	8,40	0,15	26,61	72,73
2	0-18	4,20	7,2	7,40	0,36	32,44	67,56
3	0-10	1,30	2,2	7,58	0,11	23,96	76,03

**Таблица 2.** Изменение содержание ПХБ в образцах почв после их химической деструкции NaL и ГВ (мкг/кг)

№ почвенного образца	Исходное количество ПХБ	Количество ПХБ после обработки NaL (85 мл/кг)	Количество ПХБ после обработки NaL (170 мл/кг)	Количество ПХБ после обработки ГВ
1	90,6	21,7	21,5	45,3
2	117,1	27,2	27,4	63,1
3	340016	13292	5403	201450

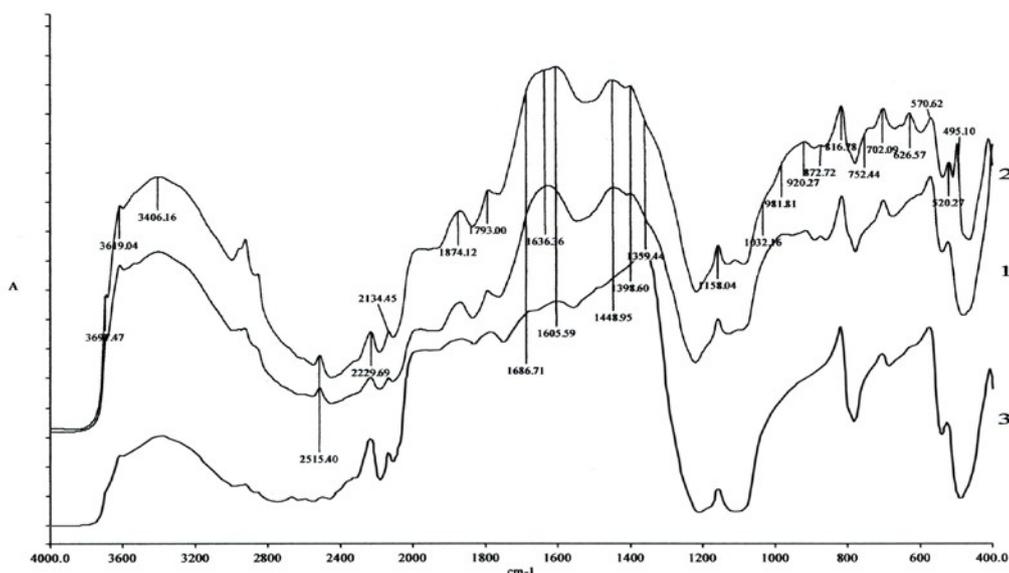
В третьем образце ПХБ при двойной дозе реагента уменьшается в 63 раза, тем не менее, его количество в почве остается достаточно высоким. В данном случае количества реагента было недостаточно, так как расчет доз для обработки почвенных образцов производился по аналогии с серой лесной почвой, имеющей загрязнение 71900 мкг/кг (табл. 2), что меньше концентрации ПХБ в третьем образце в 4,73 раза.

Внесение гуминовых кислот привел к значительно снижению содержание ПХБ во всех вариантах опыта. Как показали результаты анализов (табл. 2), обработка загрязненной почвы гуминовыми веществами с дозой 1 М, привела к уменьшению содержания ПХБ в 1 и 2 варианте – в среднем

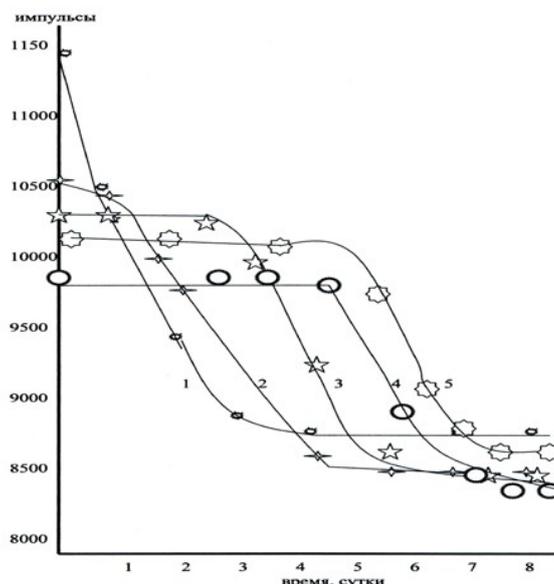
на 50% однако при высоком уровне загрязнения вариант 3 такого эффекта не было отмечено однако сокращение поллютанта было отмечено. Полученный эффект свидетельствует о возможной деструкции ПХБ гуминовыми веществами и требует дальнейшего изучения.

Для обоснования механизма деструкции были проведены структурно-химические исследования разрушения хлорорганических соединений солями аминокислот в почвенном образце из верхнего горизонта разреза № 3.

Образцы почвы третьего разреза до обработки реагентом и после, были исследованы методом ИК-Фурье-спектроскопии (рис. 1).



**Рис. 1.** ИК-спектры почвы, содержащей ПХБ (1), почвы, пропитанной NaL (2) и отмытой почвы (3)



**Рис. 2.** Изменение прозрачности почвы к гамма лучам в процессе пропитки раствором NaL от времени пропитки. 1 – граница фаз; 2 – на глубине 2 см; 3 – на глубине 4 см; 4 – на глубине 8 см; 5 – на глубине 10 см

Анализ спектров позволяет предположить, что между ПХБ и NaL произошли взаимодействия, в результате которых часть или все атомы хлора в ПХБ заместились на радикалы  $-\text{NH}-\text{CHR}-\text{COONa}$ . Состав продуктов отвечает формуле:



где  $n$  – число атомов хлора в исходной молекуле ПХБ,  $m$  – число  $-\text{NH}-\text{CHR}-\text{COO}$  радикалов в продукте (рис. 1).

Спектр промытой водой почвы практически совпадает со спектром почвы, отмытой растворителями. Это указывает на то, что продукты реакции – С-замещенные бифенилполиаминополиуксусные кислоты и их соли растворимы в воде и экстрагируются из частиц, на поверхности которых были адсорбированы ПХБ.

Для получения концентрационных профилей использован ядерно-физический гамма метод, позволяющий проводить измерения распределения плотности по глубине (профиля плотности) проникающего в материал диффузанта и изменения профиля плотности во времени без разрушения образцов, в частности метод аннигиляционного гамма зонда, разработанный в ИФХ РАН.

На рис. 2. приведены зависимости изменения прозрачности почвы к гамма лучам в процессе пропитки раствором солей аминокислот от времени пропитки на границе фаз и на различной расстоянии от границы фаз (глубине слоя). Зависимость изменения прозрачности почвы к гамма лучам в процессе пропитки раствором солей аминокислот от времени пропитки на границе фаз (кривая 1) представляет собой нисходящую кривую, достигающую предельного значения. Время, за которое достигается предельное значение, соответствует времени насыщения слоя жидкостью. Из зависимости видно, что полное насыщение пограничного слоя происходит примерно за 3 сут. Вероятнее всего, что при контакте жидкости с почвой лимити-

рующей стадией перехода молекул солей аминокислот из жидкой фазы в твердую является смачивание поверхности частиц почвы.

При контакте раствора соли аминокислоты с частицами почвы возникают межмолекулярные взаимодействия между сольватоконкомплексами и полярными участками силикатов и алюмосиликатов частиц почвы. Как было показано выше, адсорбция сольватоконкомплексов сопровождается их частичной дегидратацией. Выделяемые молекулы воды оказывают действие как разбавитель концентрированного раствора в зоне адсорбции, что приводит к замедлению процесса адсорбции или его остановке. Между сольватоконкомплексами с большим числом молекул воды и остальными происходят обменные реакции, в результате которых в зоне контакта с частицей почвы вновь появятся сольватоконкомплекс с меньшим числом молекул воды, способные к активной адсорбции. Такие процессы будут протекать до тех пор, пока не будет достигнута предельная сорбция. По мере адсорбции все большее число сольватоконкомплексов окружает частички почвы, смачивает их. По-видимому, при достижении предельной сорбции достигается полное смачивание частиц почвы раствором солей аминокислот и, соответственно, насыщение слоя. Следует отметить, что превращения ПХБ происходят в условиях полного насыщения.

Таким образом, эксперименты по детоксикации ПХБ в образцах из верхних горизонтов почв в лабораторных условиях показали уменьшение в несколько раз содержания стойких органических соединений.

Доза аминокислотного реагента 85 мл/кг (концентрация 2 моль/л) приводит к деструкции всего химически доступного количества ПХБ за данное время экспозиции (10 сут).

Исследования методом ИК-Фурье спектроскопии показали, что после пропитки аминокислотным

реагентом почвы содержащей ПХБ, в течении нескольких суток значительно уменьшается интенсивность C-Cl колебаний, что отражает динамику замещения атома хлора на аминокислотные радикалы. Изменение соотношения гомологических групп конгенеров в почвах свидетельствует о процессах взаимодействия ПХБ с аминокислотной композицией и поэтапной замене ионов хлора на аминокислотный радикал.

Анализ по деструкции ПХБ гуминовыми веществами свидетельствует о возможной деструкции но требует дальнейшего изучения.

В итоге можно подчеркнуть, что в экспериментах с натурными образцами получены положительные результаты по деструкции ПХБ солями аминокислот.

Работа выполнена по гранту РФФИ 12-04-31924 мол\_а.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Галулин Р.В., Баикин В.Н., Галулина Р.Р. Полихлорбифенилы в орошаемых агроландшафтах Самаркандского оазиса // Мелиорация и водное хозяйство. 1998. № 5. С. 46-50.
2. Градова Н.Б., Тарасов В.В., Хмылова М.В., Жариков Г.А. Биоиндикация и детоксикация почв, загрязненных полихлорированными бифенилами // Агрохимия. 2005. № 7. С. 73-76.
3. Методика выделения гуминовых веществ URL [www.Ihss.gatech.edu](http://www.Ihss.gatech.edu)
4. Клюев Н.А., Бродский Е.С. Определение полихлорированных бифенилов в окружающей среде и биоте // Полихлорированные бифенилы супертоксиканты XXI века. Инф. вып. № 5. М.: ВИНТИ. 2000. С. 31-63.
5. Парфенюк А.С., Антонюк С.И., Топоров А.А. Диоксины: проблемы техногенной безопасности технологий термической переработки углеродистых отходов // Экотехнологии и ресурсосбережение. 2002. № 6. С. 40-44.
6. Федоров Л.А. Диоксины как экологическая опасность: ретроспектива и перспективы. М.: Наука, 1993. 226 с.
7. Фридман А.Я., Шемякина Е.В., Курочкин В.К. и др. Органоминеральные композиции на основе осадка сточных вод канализационно-очистных сооружений. М., 2000. 135 с.
8. Ho Y.S., Wang Y.J. Topical application of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin lack of skin tumor-promoting potency but induce hepatic injury and tumor necrosis factor-alpha expression in ICR male mice. // Free radical biology and medicine. 2003. V. 35. 373 p. Suppl. 1.
9. Strijakova E.R., Vasilyeva G.K. Use of Natural adsorbents for Soil Bioremediation // Viable methods of soil and water pollution monitoring, protection and remediation: development and use. Abstracts. Krakow, 2005. P. 58.
10. Dauderer M. Umweltgifte; Kompendium der klinischen Toxikologie. Muenchen: Ecomed Verlagsgesellschaft, 1990. Bd 13, Teil 3.
11. Rosiers P.E. Chemical detoxification of dioxin-contaminated wastes using potassium polyethylene glycolate // Chemosphere. 1989. V. 18. № 1-6. P. 343-353.

## INVESTIGATION OF DESTRUCTION POLYCHLORINATED BIPHENYLS SODIUM SALTS OF AMINO ACIDS AND HUMIC ACIDS IN SOILS

©2013 D.V. Demin, D.Y. Aladin., I.V. Tatarkin, S.M Sevost'yanov, N.F. Deeva, A.A.Ilyina

Institute of Basic Biological Problems of RAS, Pushchino

Set transformation and cleavage of chlorine in the aromatic ring of the macromolecules of PCBs under the influence of the amino acid reagent and humic acids. Chromatography techniques and IR spectroscopy and cleavage transformation chlorine on the aromatic ring macromolecules PCB influenced amino acid reagent.

**Key words:** polychlorinated biphenyls, gray forest soil, the sodium salts of amino acids, humic acid.

---

Dmitry Demin, Candidate of Biology, researcher, e-mail: [dmitriy\\_demin@rambler.ru](mailto:dmitriy_demin@rambler.ru); Danila Aladin, junior researcher, e-mail: [aladin-danila@rambler.ru](mailto:aladin-danila@rambler.ru); Ivan Tatarkin, researcher, e-mail: [ivantatarkin2005@rambler.ru](mailto:ivantatarkin2005@rambler.ru); Sergey Sevostianov, Candidate of Biology, leading researcher, e-mail: [Sevost2000@rambler.ru](mailto:Sevost2000@rambler.ru); Nadezhda Deeva, senior researcher, e-mail: [ndeeva@rambler.ru](mailto:ndeeva@rambler.ru); Alevtina Ilyina, researcher, e-mail: [alevtinaili@rambler.ru](mailto:alevtinaili@rambler.ru)