

УДК 543.2:582.32:574

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА МХА — ЕСТЕСТВЕННОГО БИОИНДИКАТОРА ДЛЯ МОНИТОРИНГА ВОЗДУХА ВОСТОЧНО- КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Омарова Нурия Молдагалиевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры химии Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева (ЕНУ)

Ташенов Ауэзхан Карипханович, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой химии Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева (ЕНУ)

Кабдулкаримова Кульбану Кабдулкаримовна, кандидат химических наук, преподаватель Государственного университета им. Шакарима

Нуркасинова Махаббат Улановна, преподаватель кафедры химии Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева (ЕНУ)

Нургалиева Диана Жаныбековна, магистр кафедры химии Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева (ЕНУ)

Фронтасьева Марина Владимировна, кандидат физико-математических наук, начальник сектора нейтронного активационного анализа и прикладных исследований отдела ядерной физики Лаборатории нейтронной физики им. Франка Объединенного института ядерных исследований

Моржухина Светлана Владимировна, кандидат химических наук, заведующий кафедрой химии, новых технологий и материалов Государственного университета «Дубна»

Аннотация

В статье приведены результаты определения химического состава мха Восточно-Казахстанской области (ВКО). Проведены следующие этапы исследования: заготовка растительного сырья; методика взятия пробы исследуемого материала для анализа; определение концентрации элементов методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС). Разработаны способы сухого и мокрого озонения биоиндикатора. Сопоставлены результаты анализа мха, полученные методом ИСП-МС и методом инструментального нейтронного активационного анализа (ИННА). Определена достоверность результатов анализа методом добавок и фотометрическим определением концентрации элементов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мох-биоиндикатор, тяжелые металлы, Восточно-Казахстанская область, метод масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС), стандартные образцы, метод микроволнового разложения, сухое и мокрое озонение.

STUDY OF THE COMPOSITION OF MOSS — NATURAL BIOINDICATOR FOR MONITORING THE AIR OF THE EAST-KAZAKHSTAN AREA

Omarova Nuria Moldagalievna, Candidate of Biological Sciences, associate professor of the Department of Chemistry of the Eurasian National University n.a. L.N. Gumilev (ENU)

Tashenov Auezkhan Kariphanovich, Doctor of Chemistry, professor, Head of the Department of Chemistry of the Eurasian National University n.a. L.N. Gumilev (ENU)

Kabdulkarimova Kulbanu Kabdulkarimovna, Candidate of Chemical Sciences, lecturer at the State University. n.a. Shakarim

Nurkasimova Mahabbat Ulanovna, lecturer of the Department of Chemistry of the Eurasian National University n.a. L.N. Gumilev (ENU)

Nurgalieva Diana Zhanybekovna, Master of the Department of Chemistry of the Eurasian National University n.a. L.N. Gumilev (ENU)

Frontasyeva Marina Vladimirovna, Candidate of Physical and Mathematical Sciences, Head of the Neutron Activation Analysis and Applied Research Sector, Nuclear Physics Division, Neutron Physics Laboratory n.a. I.M. Frank at the Joint Institute for Nuclear Research

Morzhukhina Svetlana Vladimirovna, Candidate of Chemistry, Head of the Department of Chemistry, New Technologies and Materials of the State University “Dubna”

Abstract

The article presents the results of determining the chemical composition of moss in the East Kazakhstan region. The following research stages were carried out: harvesting plant materials; methods of taking samples of the studied material for analysis; determination of the concentration of elements by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Developed methods for dry and wet ashing bioindicator. The results of the analysis of moss obtained by ICP-MS and the method of instrumental neutron activation analysis (INAA) are compared. The reliability of the results of the analysis by the method of additives and photometric determination of the concentration of elements was determined.

KEYWORDS: moss-bioindicator, heavy metals, East Kazakhstan region, inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), reference materials, microwave decomposition, dry and wet ashing.

Промышленное загрязнение природной среды (воздуха) в зонах влияния крупных предприятий является в настоящее время серьезной экологической проблемой. Наиболее сильным и распространенным загрязнением является контаминация тяжелыми металлами. Техногенные источники тяжелых металлов многочисленны и разнообразны. Их особенностью является способность к формированию участков загрязнения с высокими концентрациями токсикантов. Наиболее крупными поставщиками тяжелых металлов являются химические предприятия, автотранспорт, бытовые котельные.

По мнению специалистов, загрязнение атмосферы – наиболее опасная форма загрязнения. Атмосферный воздух имеет неограниченную емкость и играет роль наиболее подвижного, химически агрессивного агента взаимодействия вблизи поверхности компонентов биосферы, гидросферы и литосферы. Атмосфера оказывает интенсивное воздействие не только на живой организм, но и на гидросферу, почвенно-растительный покров, геологическую среду. Поэтому мониторинг и прогнозирование изменений атмосферного воздуха является все более актуальной проблемой с течением времени.

Воздух является весьма подвижной средой, и применение химических методов исследования его состава для решения задач мониторинга нерационально, т.к. требует либо установки большого количества автоматических станций, либо постоянного отбора проб с большой частотой (не менее 6 раз в сутки) по всей территории зоны защитных мероприятий (ЗЗМ).

Наилучшим способом решения этой проблемы является использование биологических индикаторов – аккумуляторов атмосферных выпадений. К таким

биологическим объектам относится мох. Благодаря высокоразвитой поверхности моховой покров является хорошим сорбентом, а низкий уровень метаболизма способствует накоплению в биомассе многих веществ, в том числе тяжелых металлов. Вероятно, это связано с отсутствием у мхов высокоспециализированных покровных тканей и неспособностью большинства мохообразных ежегодно обновлять свой фотосинтезирующий аппарат, подобно тому, как делают это цветковые растения, сбрасывая листву осенью. Возможно, также острота реакции мхов связана с небольшой массой их тела. Мхи не имеют корневой системы, и, следовательно, вклад других источников, кроме атмосферных выпадений, в большинстве случаев органичен. Применяя современные методы химического анализа можно установить элементный состав атмосферных выпадений в месте сбора и количественно определить концентрацию того или иного химического вещества, накопленного мхом за определенный период времени. Использование мхов в качестве индикаторов атмосферного загрязнения имеет существенные преимущества перед традиционными методами, поскольку сбор образцов несложен, не требует дорогостоящей аппаратуры для пробоотбора воздуха и осадков; процесс сбора, транспортировка и хранение мха менее трудоемки.

В связи с тем, что формирование мохового покрова происходит в течение 2 – 5 лет, анализ биомассы может дать оценку уровня загрязнения атмосферы на различных участках изучаемой территории за этот период [1-3].

Целью нашего исследования является количественное определение концентрации тяжелых металлов в образцах мхов, и возможности использования их в качестве биоиндикаторов при мониторинге экологического состояния Восточно-Казахстанской области Казахстана.

Экспериментальная часть

Отбор проб и их подготовка к анализу. В соответствии с общепринятой международной методикой [3] были собраны 30 проб мхов летом 2014-2015 годов, 28 проб – осенью и летом 2015-2016 гг. и 30 проб осенью и летом 2017 года.

Точки пробоотбора были выбраны на открытых местах вдали от деревьев, жилых объектов, крупных дорог, населенных пунктов. Радиус зоны обследования составил около 10 км. При сборе мха были использованы перчатки и полиэтиленовые пакеты. Масса сырого мха с каждой точки составляла не менее 3 кг. Пробы сортировались для исключения попадания посторонних растений и включений и усреднялись.

Растительный материал - мох после удаления инородных растительных материалов был высушен до воздушно-сухого состояния при комнатной температуре, а затем до постоянной массы в сушильном шкафу при температуре 30°C в течение 48 часов. Образцы мха не промывались. Была подготовлена средняя проба, которая хранилась в банках с притертой пробкой [4].

Анализ образцов мха **методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС)** был проведен в испытательной региональной лаборатории инженерного профиля «Научный центр радиэкологических исследований» Государственного университета имени Шакарима города Семей.

Сущность метода: индуктивно связанная плазма, поддерживаемая в специальной горелке, возбуждает ионы из атомов вводимого образца. Далее ионы фокусируются ионно-оптической системой и попадают в анализатор масс-спектрометра Varian ICP-MS-820. Ионный поток затем попадает в детектор для количественной регистрации.

Данный метод определяет концентрации элементов на уровне от сотых долей нанограммов до сотен миллиграммов на литр ($1 \cdot 10^{-12}$ - $1 \cdot 10^{-20}$ %). Достижимые пределы обнаружения, высокая чувствительность и избирательность метода ИСП-МС позволяет количественно определять в пробах растительного происхождения до 40 – 50 элементов в течение 2 – 3 минуты (без учета времени пробоподготовки) [5].

Для подготовки образцов к анализу методом ИСП-МС мох высушивали в течение 6 – 8 часов при температуре 60°C в сушильном шкафу. Полученную пробу измельчали, взвешивали и помещали в фарфоровые тигли с крышками и озоляли в муфельной печи в течение 6 – 7 часов при температуре 400 – 450°C.

Для приготовления аналитических образцов применяли **метод микроволнового разложения**. Метод основан на минерализации проб растений в герметично замкнутом объеме аналитического автоклава при воздействии повышенной температуры и давления.

Навеску пробы (около 2 г) помещали во фторопластовую реакционную емкость, приливали последовательно по 5 мл азотной кислоты. Автоклав герметизировали и помещали в микроволновую печь и разлагали пробу, используя программу разложения, рекомендованную производителем печи. Полученный раствор переносили во фторопластовый стакан (объем 50 мл), помещали на электрическую плитку и выпаривали до влажных солей. Затем во влажные соли приливали 2 мл концентрированной серной кислоты, нагревали до растворения осадка, далее охлаждали до комнатной температуры и количественно переносили в мерную полиэтиленовую пробирку (объемом 25-30 мл).

Промывали стакан 10-15 мл бидистиллированной водой и доводили до объема 20 мл. Те же операции проводили с холостой пробой. Для измерения методом ИСП-МС полученный раствор разбавляли в 10 раз.

Для сведения к минимуму уровня лабораторного фона все операции по подготовке образцов к измерениям и сами измерения проводили в чистом помещении, в котором не скапливается пыль. Для анализа низких концентраций загрязнения из окружающей среды являются основным фактором, ограничивающим пределы обнаружения и определения методом ИСП-МС. Для подготовки образцов пользовались сосудами из фторопласта. Используемые для пробоподготовки фторопластовые посуды тщательно промывали в ультразвуковой ванне в разбавленной (1:1) азотной кислоте и трижды ополаскивали деионизированной водой. Для временного хранения образцов и рабочих градуировочных растворов пользовались одноразовой посудой из полипропилена.

Рабочие стандартные растворы готовили путем смешивания нескольких опорных многоэлементных стандартных растворов для масс-спектрометра Varian ICP-MS-820. Для калибровки спектрометра использовали два-три рабочих стандартных растворов, содержащих по 10, 40 и 100 мкг/л всех элементов. Рабочие стандартные растворы использовали в течение 3-5 дней после их приготовления.

Многоэлементные стандартные растворы готовили из стандартных образцов для проб растений производимых агентствами по стандартным образцам (NCCRM - Китай, NIST - США, IRMM – Объединенная Европа, NIES - Япония), а также специализированными фирмами (Bio-Rad, Seronorm, Sigma-Aldrich, Merck и др.).

Точность результатов анализа проверяли **методов стандартных добавок**. Для этого отбирали две пробы и добавляли растворы стандартного образца таким образом, чтобы содержание определяемого элемента увеличилось по сравнению с исходным на 50-150 %. Каждую пробу анализировали в точном соответствии с прописью методики.

Необходимые режимы работы масс-спектрометра устанавливали в соответствии с рекомендациями производителя.

Для проверки **достоверности (правильности)** результатов анализа в золях мха определяли содержание железа, меди, свинца, кадмия, цинка, магния, марганца, кальция фотометрическим [6] и калия и натрия - пламенно - фотометрическим методами в соответствии ГОСТ 26185-84 [7]. Для этого образцы мха переводили в золу сухим и мокрым озолением [7].

Сухое озоление: воздушно-сухую навеску мха прокаливали в муфельной печи при температуре 450-500°C (температуру поднимали постепенно) в фарфоровой чашке в течение 2-3 часов до постоянной массы (при более высокой температуре происходила потеря ряда элементов – фосфора, хлоридов калия и натрия). Зола имела светло-серую окраску.

Мокрое озоление: метод основан на окислении органических веществ окислителями – смесью концентрированных азотной и серной кислот. На основе эксперимента нами было подобрано соотношение кислот. Навеску воздушно-сухого образца помещали в колбу Кьельдаля, приливали рассчитанное количество концентрированной азотной кислоты и оставляли под тягой на ночь. Затем нагревали на плитке до прекращения выделения бурых паров оксидов азота и после охлаждения приливали концентрированной серной кислоты. Для контроля за концом озоления в охлажденную колбу приливали осторожно по стенкам колбы холодной дистиллированной воды, если раствор оставался бесцветным и не выделялся бурые пары, озоление считалось законченным. При появлении зеленовато-желтого оттенка озоление продолжали. После окончания озоления раствор количественно переносили в мерную колбу, доводили до метки и взбалтывали. В этом растворе определяли зольные элементы.

Этот метод длительнее сухого озоления. С другой стороны, кальций удобнее определить после сухого озоления, так как при мокром озолении с серной кислотой образуется труднорастворимый осадок. Кальций определяли после растворения его в соляной кислоте.

Обработка результатов измерений. Аналитические сигналы обрабатывались программным обеспечением масс-спектрометра, основываясь на построенных калибровочных линейных регрессиях, рассчитанных методом наименьших квадратов, с учетом коррекции фона, сигнала внутренних стандартов. Результат определения каждого элемента представлялся как среднее из нескольких (не менее двух) параллельных измерений анализируемого образца. Результаты измерений отображались на мониторе, распечатывались и сохранялись в виде файла на жестком диске компьютера.

Результаты и их обсуждение

В таблице 1 представлены сравнительные результаты ИСП-МС анализа образцов мха после микроволнового разложения и ИНАА [8], а также приведены значения медианы элементов, содержащихся во мхах Казахстана и Норвегии [9].

Таблица 1. Результаты ИСП-МС анализа образцов мха после микроволнового разложения и ИНАА, мкг/г

| Наименование химического элемента | Результаты ИСП-МС анализа | Результаты ИНАА [8] | Диапазон содержаний элементов в Норвегии [9] |
|-----------------------------------|---------------------------|---------------------|--|
| Натрий, Na | 820,41 | 760,4 | - |
| Магний, Mg | 2723,62 | 2627,3 | 940-2370 |
| Алюминий, Al | 2999,34 | 3879,5 | 67-820 |
| Кремний, Si | - | 19933,5 | - |
| Калий, K | 6549,91 | 6667,5 | - |
| Кальций, Ca | 5852,53 | 5643,5 | 1680-5490 |
| Мышьяк, As | 3,28 | 3,195 | 0,020-0,505 |
| Барий, Ba | 38,88 | 44,38 | 5,6-50,5 |
| Марганец, Mn | 232,11 | 234,115 | 22-750 |
| Кобальт, Co | 0,96 | 1,5261 | - |
| Никель, Ni | 3,81 | 4,1415 | - |
| Медь, Cu | 65,74 | - | - |
| Цинк, Zn | 68,72 | 55,745 | 7,9-173 |
| Стронций, Sr | 9,15 | 29,555 | - |
| Титан, Ti | - | 259,96 | 12,4-66,4 |
| Свинец, Pb | 296,53 | - | - |
| Железо, Fe | 181,5 | 2815 | 77-1370 |
| Хром, Cr | - | 9,406 | - |
| Фосфор, P | 17,13 | - | - |
| Селен, Se | 0,11 | 0,306 | - |
| Кадмий, Cd | - | - | 0,025-0,171 |
| Ванадий, V | - | 7,374 | 0,39-5,1 |

Как видно из таблицы 1, содержание концентраций элементов, определенных методами ИСП-МС и ИНАА показало их близкие значения, что указывает на высокую чувствительность и достоверность результатов метода ИСП-МС.

Так как основным требованием к ИСП-МС является полное переведение в раствор элементов, то химическая пробоподготовка является основной стадией, определяющей правильность всего анализа в целом. Надо отметить, что использованный нами метод микроволнового разложения, используемый для пробоподготовки, обладает следующими преимуществами: высокой производительностью разложения; более полным окислением органической матрицы; уменьшением потерь летучих элементов при разложении; существенным сокращением времени разложения и уменьшением расхода химических реактивов.

В таблице 2 приведены результаты фотометрического анализа мха при сухом озолении.

Таблица 2. Результаты фотометрического (пламенно-фотометрического) анализа состава мха при сухом озолении, мг/г сухого вещества

| Наименование химического элемента | Ca | K | Na | Mg | Mn | Fe | Zn | Cu | Pb | Cd |
|-----------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Содержание | 5,93 | 6,67 | 0,89 | 2,67 | 0,25 | 2,77 | 0,07 | 0,07 | 0,31 | 0,05 |

Как видно из таблицы 2, результаты ИСП-МС анализа образцов мха также хорошо согласуются с данными фотометрического анализа.

По исследованию мировых государств, в рейтинге самых экологически чистых стран мира на второй позиции находится Норвегия [10]. Сравнение концентраций тяжелых элементов в образцах мха Восточно-Казахстанской области показало повышенные значения для большинства элементов (Fe, Ti, V, As, Mg, Al, Ca) (табл. 1). Полученные данные по накоплению токсичных элементов исследуемыми образцами мха свидетельствуют о неблагоприятной обстановке региона. Антропогенные воздействия на экосистему усиливается.

Повышение концентраций металлов в исследуемых образцах, по-видимому, обусловлены состоянием промышленного загрязнения в этой области (табл. 3).

Таблица 3. Потенциальные источники загрязнения в Восточно-Казахстанской области Казахстана

| Промышленность | Типы производства | Загрязняющие элементы |
|----------------|--|--|
| Металлургия | Казцинк, | Pb, Zn, Cu, Cd, Ag, Se, Te, Hg, In, Ce, As |
| | Усть-Каменогорский титано-магниевый комбинат | Ti, Mg, Zr, Nd |
| | Объединение «Востокказмедь» | Cd, As, Cl, Sb, Pb, Zn, Re, Bi |
| | Ульбинский металлургический завод (УМЗ) | Nb, Ti, Ta, Zr, W, Y, Al, Be, Cu, U |
| Машиностроение | Востокмашзавод | Fe, Mn, Al |
| | АО «Усть-Каменогорский арматурный завод» | Si, Cu, Zn, Pb |
| | АО «Семипалатинский машзавод» | Fe, Mn, Al, Cr, Ti |

Проведенное исследование показывает, что биомониторинг мхов атмосферного выпадения тяжелых металлов является эффективным методом изучения воздушных выпадений в Казахстане. Метод масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС) является высокочувствительным многоэлементным анализом и может быть использован при анализе объектов растительного происхождения.

Литература

1. Ruhling A., Tyler G., Heavy metal deposition in Scandinavia. *Water, Air and Soil Pollution*. 1973. N 2. P. 445-455.
2. Harmens H., Norris D.A., Sharps K., Mills G., Alber R., Aleksiyenak Y., Blum O., Cucuman S. M, Dam M., De Temmerman L., Ene A., Fernandez J.A., Martinez-Abaigar J., Frontasyeva M., Godzik B., Jeran Z., Lazo P., Leblond S., Liiv S., Magnússon S.H., Mankovska B., Pihl Karlsson G., Piispanen J., Poikolainen J., Santamaria J.M., Skudnik M., Spiric Z., Stafilov T., Steinnes E., Stihl C., Suchara I., Thoni L., Todoran R., Yurukova L., Zechmeisteret H.G. al. Heavy metal and nitrogen concentrations in mosses are declining across Europe whilst some "hotspots" remain in 2010. *Environmental Pollution*. 2015. N 200. P. 93-104.
3. Harmens H., Frontasyeva M.V. Heavy metals, nitrogen and POPs in European mosses: 2015 survey. *Monitoring manual International Cooperative Programme on Effects of Air Pollution on Natural Vegetation and Crops.*, 2015, P. 4-7.
4. Steinnes E., Jacobse L.B. The use of mosses as monitors of trace element deposition from the atmosphere in Arctic regions: a feasibility study from Svalbard. *Norsk Polar institutt Report Series*. Oslo. 1994. N 88. P. 250.
5. Карандашев В.К., Туранов А.Н., и др. Использование метода масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в элементном анализе объектов окружающей среды. //Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2007. – Т.73, №1. – С. 12-22.
6. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. М.: Химия. – 1989. – 448 с.
7. ГОСТ 26185-84. Водоросли морские, травы морские и продукты их переработки. Методы анализа. – М.: Стандарт, 1984. – 53 с.
8. Фронтасьева М.В. Нейтронный активационный анализ в науках о жизни // Физика элементарных частиц и атомного ядра. 2011. Т. 42. № 2. С. 636-716.
9. Steinnes E., Uggerud H.Th., Pfaffhuber K.A., Berg T. (NTNU). Atmospheric deposition of heavy metals in Norway, National moss survey 2015. *Norwegian Environment Agency*. 2017. – P. 55.
10. Самая чистая страна в мире [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://womanadvice.ru/samaya-chistaya-strana-v-mire>, свободный.