

LIDIA STRANDBERG¹, JERZY FALANDYSZ¹, BO STRANDBERG², CHRISTOFFER RAPPE²

ZWIĄZKI Z GRUPY CHLORDANU W TKANCIE TŁUSZCZOWEJ
MORŚWINÓW Z ZATOKI GDAŃSKIEJ*

CHLORDANES IN THE BLUBBER OF HARBOUR PORPOISES (*PHOCOENA
PHOCOENA*) FROM GULF OF GDAŃSK

¹ Zakład Chemii Środowiska i Ekotoksykologii,
Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański
80-952 Gdańsk, ul. Sobieskiego 18
Kierownik: prof. dr hab. J. Falandysz

² Instytut Chemii Środowiska Wydziału Matematyki i Nauk Przyrodniczych,
Uniwersytet Umeå, Szwecja
Kierownik: prof. dr Ch. Rappe

Przedstawiono skład i stężenia związków z grupy chlordanu w podskórnej tkance tłuszczowej morświnów złowionych jako przyłów w Zatoce Gdańskiej. Próbkę ekstrahowano i oczyszczono metodą niedestrukcyjną z dializą przez membranę polietylenową. Wyciąg analizowano techniką kapilarnej chromatografii gazowej i niskorozdzielczej spektrometrii mas (HRGC/LRMS). Oznaczono stężenia heptachloru, U82, MC4, trans-chlordanu, MC5, cis-chlordanu, MC7, MC6, trans-nonachloru, cis-nonachloru, oksychlordanu i epoksydu heptachloru.

Ssaki morskie reprezentowane są w wodach Bałtyku zarówno przez rząd waleni (*Cetacea*) jak i rząd płetwonogich (*Pinipedia*) [20]. Pucek i Raczyński w „Atlasie rozmieszczenia ssaków Polski” [17] wymieniają 12 przedstawicieli rzędu *Cetacea* występujących sporadycznie na obszarze wód Polski. Obserwacje prowadzone w latach 1979–1990 przez pracowników Uniwersytetu Gdańskiego z laboratorium na Helu, potwierdziły obecność w Bałtyku jedynie 4 przedstawicieli waleni (*Megaptera novaeangliae*, *Delphinapterus leucas*, *Lagenorhynchus albirostris*) i morświna (*Phocoena phocoena*) [18]. Spośród wymienionych waleni tylko morświn jest stałym mieszkańcem Bałtyku, a pozostałe pojawiają się okresowo.

Morświn jest ssakiem morskim niezdolnym do poruszania się po lądzie. Posiada on silnie rozwiniętą podskórną tkankę tłuszczową, co znacznie ułatwia utrzymanie stałej temperatury ciała. Morświny, w zależności od gatunku i rejonu występowania, żywią się głównie rybami, takimi jak śledź, dorsz, makrela, sardynka i dobiżak, oraz kałamarnię.

*) Badania zfinansowane przez Statens Naturvardverk, Szwecja i Uniwersytet Umeå w Szwecji, a w części także przez Komitet Badań Naukowych (DS).

nicami (kalmarami) [8]. Średnia długość życia morświna wynosi przeciętnie 7–9 lat, chociaż można spotkać osobniki nawet w wieku 24 lat [9]. Długość ciała dorosłych morświnów, w zależności od płci osobnika, wynosi do 150 cm, a sporadycznie spotykano osobniki długości 180 cm. Samice morświnów osiągają dojrzałość płciową w wieku 6 lat [8]. W maju samica rodzi w morzu 1–2 młode, które karmi bardzo tłustym mlekiem.

W pracy określono stopień zanieczyszczenia związkami z grupy chlordanu (insektycydu cyklodienowego stosowanego na świecie od przeszło 45 lat), morświnów wylęgających strefę polskiego wybrzeża Morza Bałtyckiego. Morświny, jako zwierzęta z końca łańcucha zależności pokarmowych, nagromadzają w ciele duże ilości związków chloroorganicznych [10]. Związki te pobrane z pokarmem są wchłaniane z przewodu pokarmowego i z krwią przenoszone do wątroby oraz rozmieszczane w tłuszczu organizmu. Z uwagi na powinowactwo związków chloroorganicznych do lipidów znaczne ilości tych związków zawiera tkanka tłuszczowa oraz mleko karmiących samic morświnów. Zanieczyszczenie środowiska trwałymi i toksycznymi związkami halogenoorganicznymi określa się jako jedną z przyczyn eksterminacji ssaków morskich. W polskiej strefie Bałtyku w ostatnich 30 latach, na zasadzie obserwacji lub przypadkowych odłowów, odnotowuje się obecność do kilku morświnów rocznie, podczas gdy przed 1939 r. odławiano po kilkadziesiąt sztuk rocznie.

MATERIAŁ I METODYKA

Morświny (*Phocoena phocoena*) wydobyto martwe z sieci rybackich zastawionych do połowu ryb w Zatoce Gdańskiej (dane biometryczne zwierząt zestawiono w tab. I.). Całe okazy przechowywano w stanie głębokiego zamrożenia. Wyodrębnioną podskórną tkankę tłuszczową, po określeniu jej masy do czasu analizy chemicznej przechowywano w czystych torebkach foliowych w temp. – 20°C. Materiał do analizy otrzymano od dr *K. Skóry* z Uniwersytetu Gdańskiego.

Tabela I. Dane biometryczne morświnów
Biometric data of harbour porpoises

Płeć i numer okazu	Masa ciała (kg)	Długość (cm)
Samiec 1	38,4	131
Samiec 2	44,8	129
Samica 1	38,8	131
Samica 2	50	128

Zastosowany tok postępowania analitycznego, w znacznej części opisany przez *Norstroma* [14], kolejno obejmował: homogenizację tkanki tłuszczowej (8,8 – 11 g) z nadmiarem bezwodnego siarczanu sodowego; ekstrakcję mieszaniną rozpuszczalników organicznych (aceton 2,5\heksan 1 oraz eter dietylowy 1\heksan 9); odpędzenie rozpuszczalnika; dializę z zastosowaniem półprzepuszczalnej membrany polietylenowej; podział analitu w stosunku 9:1 (9 – analiza dioksyn, furanów, non-, mono-*ortho* PCBs; 1-BCDs, pestycydów i ich metabolitów; dalsze doczyszczanie wyciągu z równoczesnym jego rozdzieleniem na frakcje na złożu z Florisilem; detekcję i ilościowe oznaczenie techniką kapilarnej chromatografii gazowej i niskorozdzielczej spektrometrii mas (HRGC/LRMS).

Przedstawiona w zarysie procedura analityczna pozwoliła na oznaczenie heptachloru, *trans*-chlordanu, *cis*-chlordanu, *trans*-nonachloru, *cis*-nonachloru, związków U82 (składnik chlordanu o nieznannej budowie), MC4, MC5, MC7, MC6 (tzw. *Miyazaki compounds*) [11] oraz takich metabolitów chlordanu, jak oksychlordan i epoksyd heptachloru.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W podskórnej tkance tłuszczowej morświnów z wyjątkiem heptachloru wykazano obecność wszystkich analizowanych związków, łącznie z metabolitami (tab. II).

Stężenie CHLs ogółem mieściło się w granicy od 420 – 1000 ng/g masy mokrej (odpowiednio 470 – 1300 ng/g tłuszczu).

Tabela II. Stężenia pozostałości związków z grupy chlordanu w podskórnej tkance tłuszczowej morświnów z Zatoki Gdańskiej (ng/g masy mokrej i ng/g tłuszczu)
Concentrations of chlordanes in blubber of harbour porpoises from Gulf of Gdańsk (ng/g wet weight and ng/g lipids in parenthesis)

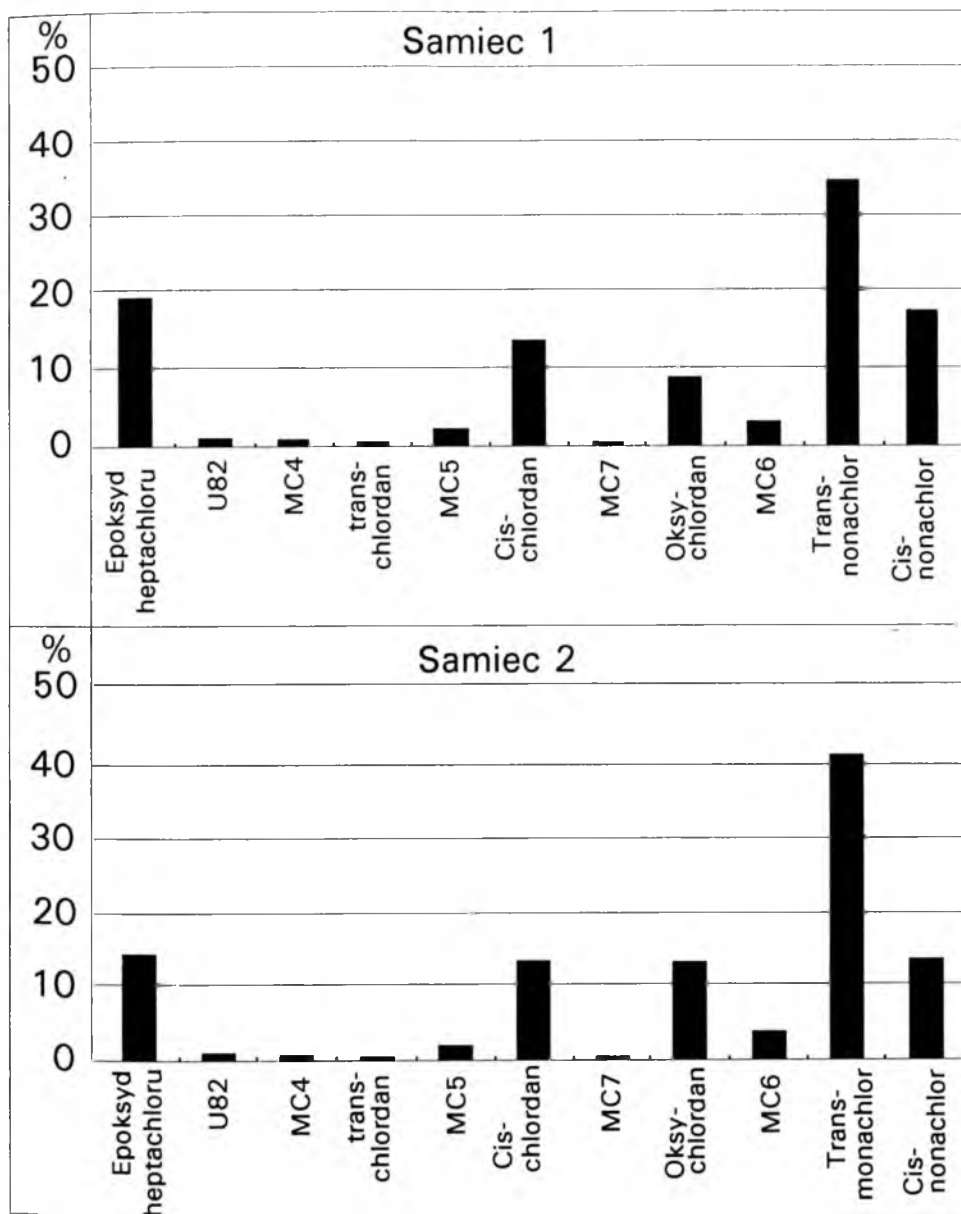
Związek	Samiec 1	Samiec 2	Samica 1	Samica 2
Masa próbki (g):	9,1	9	8,8	11
Zawartość tłuszczu (%):	89,2	77	88,2	92,5
Epoksyd heptachloru	82 (92)*	140 (180)	72 (82)	93 (100)
U82	2,6 (2,9)	6,7 (8,7)	4,0 (4,5)	5,9 (6,3)
MC4	2,0 (2,2)	4,9 (6,4)	3,5 (4,0)	3,8 (4,1)
<i>Trans</i> -chlordan	1,4 (1,6)	2,7 (3,6)	3,3 (3,7)	6,0 (6,5)
MC5	9,0 (10)	17 (22)	13 (15)	28 (30)
<i>Cis</i> -chlordan	58 (65)	130 (170)	90 (100)	130 (140)
MC7	0,9 (1,0)	1,5 (2,0)	0,9 (1,0)	2,4 (2,5)
Oksychlordan	36 (41)	130 (170)	46 (52)	100 (110)
MC6	11 (13)	36 (46)	14 (16)	30 (32)
<i>Trans</i> -nonachlor	146 (160)	410 (530)	209 (237)	320 (340)
<i>Cis</i> -nonachlor	74 (82)	130 (170)	75 (85)	92 (99)
CHLs	420 (470)	1000 (1300)	530 (600)	810 (870)

* w nawiasie podano zawartość związku w ng/g tłuszczu

Zbadane morświny charakteryzuje względnie duża zawartość w ustroju cyklodienowych insektycydów z grupy chlordanu. Niemniej, wykazane stężenia są mniejsze niż zanotowano w morświnach złowionych pod Jastarnią w Zatoce Puckiej (pół.-zach. część Zatoki Gdańskiej) w latach 1989 – 1990. W podskórnej tkance tłuszczowej samic badanych przez Kannan i wsp. [8] wykazano CHLs w stężeniu średnio 1 $\mu\text{g/g}$ masy mokrej (1,2 $\mu\text{g/g}$ tłuszczu), a w tych badaniach wykazano 0,67 $\mu\text{g/g}$ masy mokrej (0,74 $\mu\text{g/g}$ tłuszczu). Morświny złowione w Zatoce Puckiej w latach 1989–1990 ponadto charakteryzowała duża zawartość takich pestycydów chloroorganicznych, jak: DDTs (DDT i jego metabolitów), HCHs (izomery heksachlorocykloheksanu), HCB (heksachlorobenzen), dieldryna, a także polichlorowanych bifenyli (PCBs) [8]. Morświny, podobnie jak inne ssaki morskie, nagromadzają zanieczyszczenie lipofilowe tylko na drodze pokarmowej [19].

Obecność związków z grupy chlordanu w organizmach bałtyckich wskazuje na nanoszenie tych związków drogą powietrzną z bardziej odległych rejonów świata – krajów gdzie ten insektycyd jest jeszcze stosowany lub został nagromadzony w glebie, a na zasadzie globalnej frakcjonowanej destylacji i zimnej kondensacji jest deponowany w Bałtyku [1, 4, 5, 9]. W Polsce chlordan stosowano w uprawie roślin krótko i w małych ilościach [4, 12]. Podobnie, chlordan w małych ilościach stosowano w krajach skandynawskich do lat 60- tych [13]. Niemniej, w norwesko-duńskich badaniach nad morświnami, duże stężenia CHLs wykazano w ciele okazów pochodzących z obszarów morskich przyległych do krajów skandynawskich, a złowionych w latach 1987–1991 [10]. Na przykład, średnie stężenie *trans*-nonachloru u zbadanych 34 samców wyniosło 1600 ng/g tłuszczu, podczas gdy u samców z Zatoki Gdańskiej było 350 ng/g tłuszczu. Analogicznie, średnie stężenie epoksydu heptachloru wynosiło 410 ng/g tłuszczu (odpowiednio 140 ng/g tłuszczu dla okazów z Zatoki Gdańskiej), zaś oksychlordanu 360 ng/g tłuszczu (odpowiednio 110 ng/g tłuszczu dla okazów z Zatoki Gdańskiej). Zarówno epoksyd heptachloru, jak i oksychlordan są metabolitami składników preparatu technicznego chlordanu. Morświny złowione w wodach przybrzeżnych Danii i Norwegii zawierały cyklodieny w stężeniu o kilka razy większym niż morświny z Zatoki Gdańskiej. Morświny z wód skandynawskich zawierały również 2–3 krotnie więcej CHLs niż foki pospolite (*Phoca vitulina*) z tych samych obszarów. Brak jest danych dotyczących związków z grupy chlordanu w trzech przedstawicielach płetwonogich: foce szarej (*Halichoreus grypus*), foce obrączkowanej (*Pusa hispida*) i focy pospolitej (*Phoca vitulina*), potencjalnie spotykanych w Zatoce Gdańskiej. Z badań Andersson i Wartanian [2] wynika, że foki bałtyckie zawierały bardzo duże stężenia CHLs, znacznie przewyższające te zanotowane u morświnów z Zatoki Gdańskiej. Foki z części północnej i wschodniej Bałtyku także zawierały więcej CHLs (od 3,3 do 5 $\mu\text{g/g}$ tłuszczu) niż foki z części zachodniej (Skagerrak i Kattegat) wybrzeża Szwecji [2]. W znacznie wcześniejszych badaniach (1974 – 1989) w focy szarej i obrączkowanej (Zatoka Botnicka i Zatoka Fińska) CHLs wykazano w stężeniu od 1 do 10 $\mu\text{g/g}$ tłuszczu [7, 15, 16].

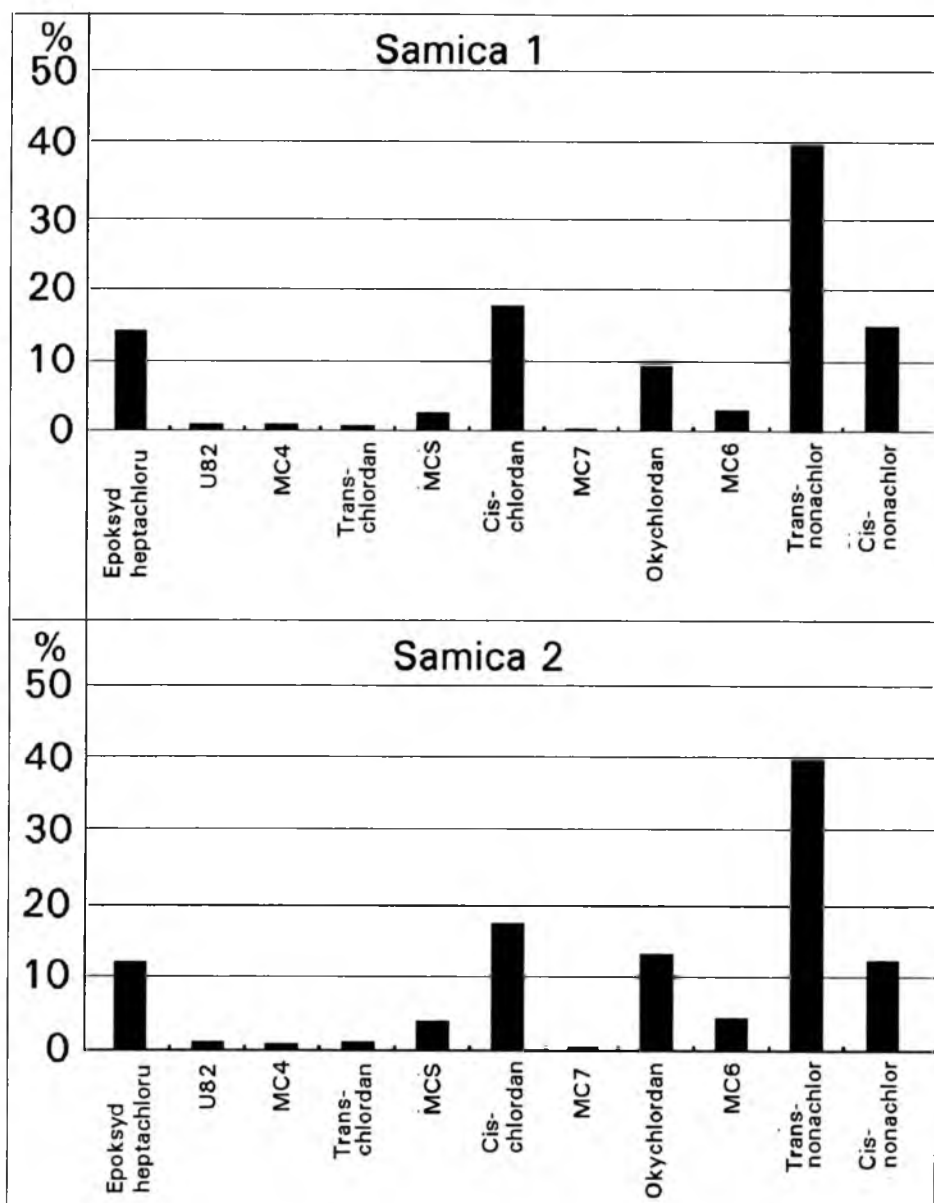
Wielkość nagromadzania zanieczyszczeń lipofilowych w ciele ssaków morskich zależy od takich czynników jak: źródło i rodzaj pożywienia, skład lipidów w poszczególnych tkankach i narządach, wiek morświnów oraz płęć [10, 19]. Wiek okazów morświna zbadanych w tej pracy był nieznan. Korzystając z danych z piśmiennictwa [3, 6, 10,



Ryc. 1a. Skład (%) związków z grupy chlordanu w podskórnej tkance tłuszczowej morświnów z Zatoki Gdańskiej.

Composition (%) of chlordanes in blubber of harbour porpoises from Gulf of Gdańsk

19], na podstawie masy i długości oszacowano, że wiek zbadanych osobników mógł wynosić od 2 do znacznie powyżej 4 lat.



Ryc. 1b. Skład (%) związków z grupy chlordanu w podskórnej tkance tłuszczowej morświnów z Zatoki Gdańskiej.

Composition (%) of chlordanes in blubber of harbour porpoises from Gulf of Gdańsk

Skład procentowy pozostałości CHLs w poszczególnych okazach morświna z Zatoki Gdańskiej był niemal identyczny (ryc. 1a, b). Dominował *trans*-nonachlor (35–40%), dalej w kolejności były: epoksyd heptachloru (11–19%), *cis*-chlordan (11–17%), *cis*-

nonachlor (11–17%), oksychlordan (9–13%), związki MC6 i MC5 stanowiły do 5%, a pozostałe wynosiły poniżej 1%.

W badaniach *Kannana i wsp.* [8] *trans*-nonachlor stanowił 36% składu pozostałości CHLs w podskórnej tkance tłuszczowej morświnów złowionych w Zatoce Puckiej w latach 1989–90, tj. tyle samo co stwierdzono w niniejszych badaniach. Ten znaczny udział *trans*-nonachloru w składzie pozostałości CHLs w tkance morświnów pozwala przypuszczać, że związek ten (zawierający najwięcej – 9 atomów chloru) jest wyjątkowo odporny na metabolizm, znacznie bardziej niż zawierające 8 atomów chloru w cząsteczce *cis*- i *trans*-chlordan, a także zawierający 7 atomów chloru heptachlor. Skład procentowy pozostałości składników CHLs był podobny dla samic i samców morświna, co może wskazywać na zbliżone u obu płci możliwości metabolizowania związków chlordanu.

L. Strandberg, J. Falandysz, B. Strandberg,
C. Rappe

CHLORDANES IN THE BLUBBER OF HARBOUR PORPOISES (*PHOCOENA PHOCOENA*) FROM GULF OF GDAŃSK

Summary

The composition and the concentration of chlordanes were shown in blubber of harbour porpoises collected from the Gulf of Gdańsk, Baltic Sea, in 1991 – 1992. Chlordanes were determined using capillary gas chromatography and low resolution mass spectrometry (HRGC/LRMS). The range of CHLs concentration in blubber was between 420 – 1000 ng/g wet weight (470 – 1300 ng/g lipid weight). The composition of CHLs residues was similar in males and females, with *trans*-nonachlor (37%) as a most abundant compound, and followed by heptachlor epoxide (15%), *cis*-chlordan (14%), *cis*-nonachlor (14%), oxychlordan (11%), MC6 (3%), MC5 (2%), *trans*-chlordan, MC7, U82 and MC4 (<1%).

PIŚMIENNICTWO

1. Andersson O., Linder C.-E., Olsson M., Reutergardth L., Uvemo U.-B., Wideqvist U.: Spatial differences and temporal trends of organochloride compounds in biota from the northwestern hemisphere. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1988, 17, 755. – 2. Andersson O., Wrtanian A.: Levels of polychlorinated camphenes (toxaphene), chlordan compounds and polybrominated diphenyl ethers in seals from swedish waters. *Ambio* 1992, 21, 550. – 3. Bruhn R., Kannan N., Petrick G., Shultz-Bull D.E., Duinker J.C.: CB pattern in the harbour porpoise: bioaccumulation, metabolism and evidence for cytochrome P450 IIB activity. *Chemosphere.* 1995, 31, 3721. – 4. Byrdy S., Górecki K., Łaszcz E.: *Pestycydy. PWR i L, Warszawa.* 1976. – 5. Falandysz J., Kannan K., Tanabe S., Tatsukawa R.: Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in cod-liver oils: North Atlantic, Nowegian Sea, North Sea and Baltic Sea. *Ambio* 1994, 23, 288. – 6. Gaskin D.E., Frank R., Holdrinet M.: Polychlorinated biphenyls in harbour porpoises, *Phocoena phocoena* (L.), from the Bay of Fundy, Canada, and the adjacent waters, with some information on chlordan and heksachlorobenzene levels. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1978, 12, 211. – 7. Jansson B., Vaz R., Blomqvist G., Jensen S., Olsson M.: Chlorinated terpenes and chlordan compounds found in fish, guillemot and seal water from Swedish waters (*Campheclor; Toxaphene; Oxychlordan; HCH*). *Chemosphere* 1979, 8, 181. – 8. Kannan K., Falandysz J., Tanabe S., Tatsukawa R.: Persistent organochlorines in harbour porpoises from Puck Bay. *Mar. Pollut. Bull.* 1993, 26, 162. – 9. Kannan K., Falandysz J., Yamashita N., Tanabe S., Tatsukawa R.:

- Temporal trends of organochloride concentrations in cod-liver oil from the southern Baltic Proper. *Mar. Pollut. Bull.* 1992, 24, 358. – 10. Kleivane L., Skaare J.U., Bjorge A., de Ruiter E., Reijnders P. J. H.: Organochlorine pesticide residue and PCBs in harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) incidentally caught in scandinavian waters. *Environ. Pollut.* 1995, 89, 13.
11. Miyazaki T., Yamagishi T., Matsumoto M.: Isolation and structure elucidation of some components in technical grade chlordane. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1985, 14, 475. – 12. Nikonorow M.: Zanieczyszczenia chemiczne i biologiczne żywności. Wyd. Nauk-Techn., Warszawa. 1980. – 13. Norheim G., Skaare U-J., Wiig O.: Some heavy metals, essential elements, and chlorinated hydrocarbons in polar bear (*Ursus maritimus*) at Svalbard. *Environ. Pollut.* 1992, 76, 1. – 14. Norstrom R.J., Simon M., Muir D. C. G., Schweinsburg R.E.: Organochlorine contaminants in arctic marine food chains: identification, geographical distribution, and temporal trends in polar bears. *Environ. Sci. Technol.* 1988, 22, 1063. – 15. Passivirta J., Rantio T.: Chloroterpenes and other organochlorines in Baltic, Finish and Arctic wildlife. *Chemosphere* 1991, 22, 47. – 16. Pertilä M., Stenman O., Pyssalo M., Wickström K.: Heavy metals and organochlorine compounds in seals in the Gulf of Finland. *Mar. Environ. Res.* 1986, 18, 43. – 17. Pucek Z., Raczyński J.: Atlas rozmieszczenia ssaków Polski., PWN, Warszawa, 1983. – 18. Skóra K.: Notes of *Cetacea* observed in the Polish Baltic Sea: 1979–1990. *Aquatic Mammals.* 1991, 17, 67. – 19. Wells D.E., Campbell L.A., Ross H.M. Thompson P.M., Lockyer C.H.: Organochlorine residues in harbour porpoise and bottlenose dolphins stranded on the coast of Scotland, 1988–1991. *Sci. Total. Environ.* 1994, 151, 77. – 20. Żmudziński L.: Świat zwierzęcy Bałtyku. Wyd. Szkol. i Pedagog., Warszawa. 1974.

Otrzymano: 1996.03.29