

КИЇВСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМ. ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

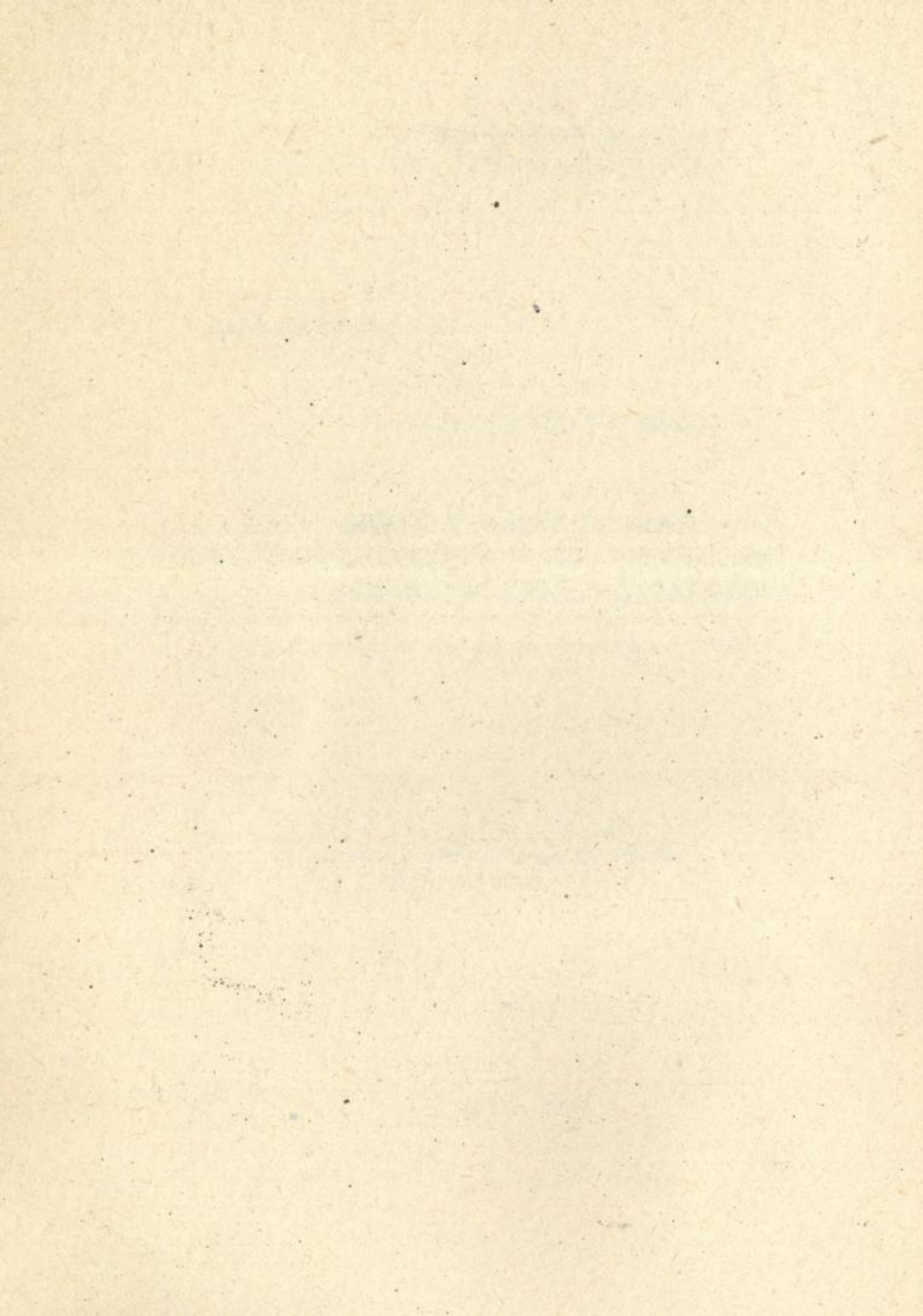
ОСАДЧА НАТАЛІЯ МИКОЛАЇВНА

**РОЛЬ ОРГАНІЧНИХ СПЛУК У ПРОЦЕСІ  
ТРАНСФОРМАЦІЇ МІДІ (II) У ВОДОЙМАХ КОМПЛЕКСНОГО  
І РИБОГОСПОДАРСЬКОГО ПРИЗНАЧЕННЯ**

11.00.07 - гідрологія суші, водні ресурси, гідрохімія

**Автореферат**  
дисертації на здобуття вченого ступеня  
кандидата географічних наук

КИЇВ - 1993



КИЇВСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМ. ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

ОСАДЧА НАТАЛІЯ МИКОЛАЇВНА

**РОЛЬ ОРГАНІЧНИХ СПЛУК У ПРОЦЕСІ  
ТРАНСФОРМАЦІЇ МІДІ (II) У ВОДОЙМАХ КОМПЛЕКСНОГО  
І РИБОГОСПОДАРСЬКОГО ПРИЗНАЧЕННЯ**

11.00.07 - гідрологія суші, водні ресурси, гідрохімія

**Автореферат**  
дисертації на здобуття вченого ступеня  
кандидата географічних наук

КИЇВ - 1993

Робота виконана в Інституті гідробіології АН України

Наукові керівники : член-кореспондент АН України,  
доктор біологічних наук,  
ЄВТУШЕНКО М. Ю.,  
доктор хімічних наук,  
ЛИННИК П. М.

Офіційні опоненти: доктор географічних наук,  
ЛЕНИСОВА О. І.  
кандидат хімічних наук,  
САВИЦЬКИЙ В. М.

Провідна організація: Укрводпроект Держкомводгоспу  
України

Захист відбудеться "23" чрудня 1993 р. в 10.00 на  
засіданні спеціалізованої Вченої ради Д. 01. 01. 02  
географічного факультету Київського університету  
ім. Тараса Шевченка (252127, МСП, Київ-127, вул. Ва-  
сильківська, 90)

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці  
географічного факультету Київського університету

Автореферат розісланий "23" чр 1993 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої ради  
кандидат географічних наук

В. К. Хільчевський

ЛНБ України ім. В. Стефаніка



00802585 (S)

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність проблеми.** В результаті функціонування сучасного індустріального суспільства в навколишнє середовище надходить велика кількість забруднюючих речовин, серед яких, на думку багатьох дослідників, важкі метали (ВМ) становлять одну з пріоритетних груп токсичного забруднення водоймищ. Характерно, що багато з металів є елементами життєво необхідними для водних організмів. Однак, в надлишковій кількості вони здатні призводити до порушення важливих фізіологічних функцій, а в окремих випадках і до загибелі організмів.

Здійснювана в нинішній час оцінка якості води ґрунтується на порівнянні валового вмісту ВМ із значеннями гранично - допустимих концентрацій (ГДК), встановлених Держстандартом. В світлі сучасних уявлень про доступність ВМ для гідробіотів необхідно судити не стільки за їх валовими концентраціями, скільки за фізико-хімічними формами існування в екосистемі. Багато дослідників відзначають, що найбільшу токсичність і доступність мають не зв'язані в комплекси акваіони металів, а також продукти їх гідролізу.

Таким чином, окрім загальноприйнятих схем дослідження ВМ в природних водах назріла необхідність диференційованої оцінки рівня вмісту їх окремих форм у водних екосистемах з врахуванням фізико - хімічного стану. Наприкінці 70-х років в Україні почали проводитися систематичні роботи по ідентифікації основних співіснуючих форм ВМ. Одержані дані торкаються не тільки загального їх вмісту, а й міжфазового розподілу ВМ в системі вода - завислі речовини, а також вмісту "вільних" і зв'язаних форм. Дані про природу комплексних сполук представлені лише їх молекулярно-масовим розподілом. В той же час відомостей про роль окремих груп органічних речовин (ОР) в утворенні комплексних сполук із ВМ, практично немає, хоч це питання є надзвичайно важливим для розуміння подальших шляхів міграції ВМ в біотичних і абіотичних середовищах водних екосистем. Подібні роботи є актуальними для водних об'єктів України, що зазнають інтенсивного антропогенного забруднення.

Вибір міді, як елемента досліджень обумовлений тим, що

цей метал відноситься до числа активних мікроелементів, які приймають участь у багатьох фізіологічних процесах. В умовах зростаючого антропогенного навантаження значна кількість міді потрапляє в поверхневі води зі стоками промислових підприємств та сільського господарства.

**Мета і завдання дослідження.** Основною метою даної роботи є вивчення форм існування міді в водоймах різного призначення і ролі окремих груп розчинених органічних речовин (РОР) в комплексоутворенні для встановлення взаємозв'язку між фізико-хімічним станом металу і його доступністю для організму гідробіонтів.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити такі завдання:

- дослідити сезонну динаміку молекулярно-масового розподілу РОР і комплексних сполук міді з ними (на прикладі Київського водосховища);

- вивчити співвідношення різних форм міді у водоймах комплексного і рибогосподарського призначення (на прикладі Канівського водосховища та рибогосподарського комплексу Київської ТЕС - 5, а також ставкового господарства Ладжинської ГРЕС);

- встановити природу комплексних сполук міді у водосховищах Дніпровського каскаду;

- дослідити кінетику комплексоутворення і комплексоутворюючу здатність РОР води (на прикладі Київського водосховища);

- встановити взаємозв'язок між вмістом і фізико-хімічним станом  $Cu(II)$  і її накопиченням ікрою риб;

- дослідити закономірності накопичення міді в органах і тканинах риб в залежності від її концентрації і форм існування у воді.

**Наукова новизна.** На основі схеми систематичного аналізу органічних речовин природних вод вперше одержані дані про органічні комплексні сполуки міді з розшифрувкою їх якісного і кількісного складу. Оцінена роль окремих за хімічною природою груп ОР (гумусові сполуки, білки, поліпептиди, вуглеводи та ін.) в зв'язуванні міді в комплекси.

Встановлена сезонна динаміка молекулярно-масового розподілу РОР і комплексних сполук міді з ними у водоймах різного

призначення.

Досліджена кінетика комплексоутворення та оцінена комплексоутворююча здатність природних вод (Київське водосховище, р. Дунай) по відношенню до міді.

Виявлені особливості складу РОР поверхневих вод, а також їх роль у процесі зв'язування міді в комплекси у водоймах рибогосподарського призначення.

Практична значимість. На основі даних про природу комплексних сполук оцінена доля форм металу, доступних організму гідробіонтів. Отримані результати є теоретичною базою для уточнення методології оцінки токсикологічної ситуації (по міді) у водоймах комплексного і рибогосподарського призначення з урахуванням форм існування металу у воді.

Встановлений взаємозв'язок між концентрацією і формами існування міді у воді та накопиченням її ікрою і тканинами дорослих особин риб.

Результати дослідження можуть бути використані в науково-дослідних і проектних організаціях, що займаються розробкою та реалізацією природоохоронних міроприємств у басейні Дніпра.

Основні результати роботи увійшли розділами у звіти по НДР, виконаних і тих, що розробляються в теперішній час Інститутом гідробіології АН України:

- "Вивчити закономірності динаміки біологічної структури і чисельності, особливості метаболізму промислових видів риб у водоймах і водотоках України-під впливом абіотичних і природних факторів. Шифр 2.33.6.6. Н держреєстрації 01890015847.

- "Вивчити закономірності міграції радіонуклідів у водних екосистемах в умовах впливу АЕС."

- "Вивчити біологічну роль неорганічних іонів водного середовища в регуляції метаболічних процесів у риб в умовах їх тепловодного вирощування". Шифр 2.33.6.2. Н держреєстрації 01840002916.

- "Розробити наукові основи відтворення і вирощування господарсько-цінних видів риб в умовах тепловодного рибного господарства Ладжинської ГРЕС (Госп. договір Інституту гідробіології з Ладжинською ГРЕС, Н 60 - 8).

Апробація досліджень. Основні результати роботи доповідались на конференціях молодих вчених Інституту гідробіології АН

України (м. Київ, 1988, 1989 р.р.), на науковій конференції "Регіональні екологічні проблеми та шляхи їх вирішення" (м. Черкаси, 1990), Всесоюзній конференції "Методологія екологічного нормування" (м. Харків, 1990), Всесоюзному симпозиуму молодих вчених "Рациональне використання та охорона водних ресурсів від забруднення" (м. Харків, 1990), Всесоюзній науковій конференції молодих вчених і спеціалістів "Оцінка стану, охорона та рациональне використання біологічних ресурсів водних екосистем в умовах антропогенного впливу" (м. Ростов-на-Дону, 1990), регіональний нараді "Методи та прилади для екологічних досліджень" (м. Іркутськ, 1990), IV Всесоюзній нараді по рибогосподарському використанню теплих вод (м. Курчатів, 1990), республіканській науково-технічній конференції "Екологічні проблеми теплоенергетики" (м. Одеса, 1990), Всесоюзній науково-технічній конференції "Екологія хімічних виробництв" (м. Северодонецьк, 1990), Всесоюзній науково-практичній конференції "Хімічні та біологічні методи в охороні навколишнього середовища від забруднення важкими металами" (м. Усть-Кам'яногорськ, 1991), Другій Всесоюзній конференції по рибогосподарстві і токсикології (м. Санкт-Петербург, 1991), нараді "Екологічні аспекти і природоохоронні міроприємства при використанні теплих вод енергетичних об'єктів" (с. Світлодарське, Донецької обл., 1992).

Структура і об'єм. Дисертаційна робота складається із вступу, 5 розділів і висновків. Включає 239 сторінок машинописного тексту, 52 малюнки і 30 таблиць у тексті. Список використаної літератури нараховує 248 найменувань, з них - 88 зарубіжних.

Публікації. По темі дисертації опубліковано 12 робіт.

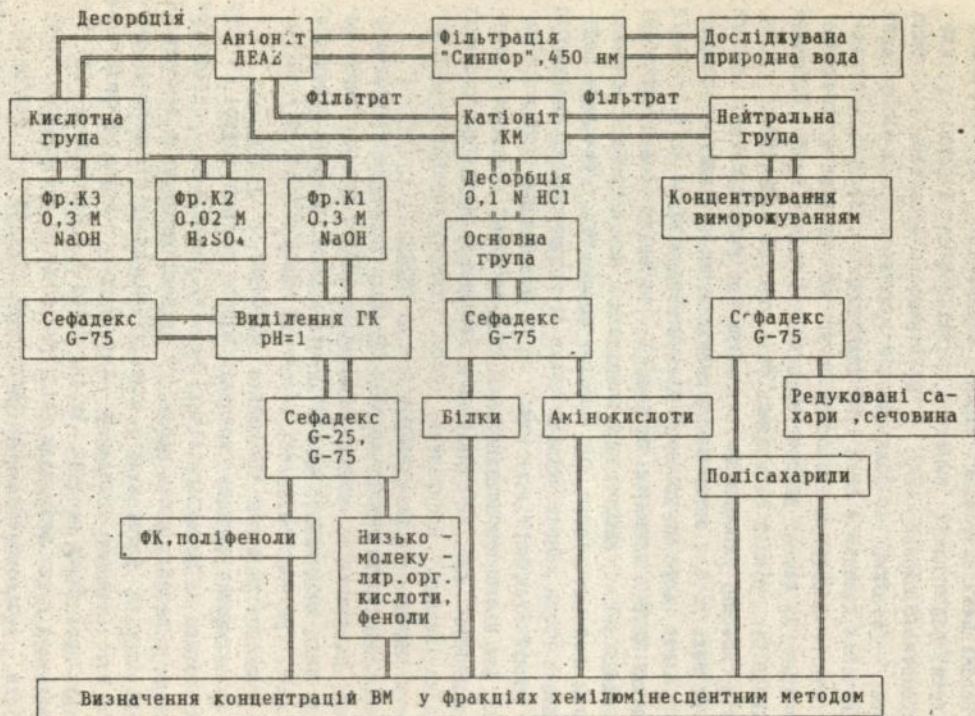
В першому розділі на основі літературних даних дана характеристика співіснуючих форм ВМ у поверхневих водах суші. Розглянуто фактори, що обумовлюють їх доступність для гідробіонтів. Відзначено, що РОР природних вод грають в більшості випадків вирішальну роль у процесі детоксикації ВМ.

В другому розділі описані методи досліджень, що використовувались в роботі. В основу покладена схема систематичного аналізу розчинених органічних речовин, розроблена І. С. Сироткіною, Г. М. Варшал та ін. (1977) з доповненнями, внесеними

І. О. Лапіним (1986) (мал. 1). Суть схеми зводиться до розділення розчинених органічних речовин та зв'язаних з ними металів за хімічною природою на кислотну, основну та нейтральну групи. Для розділення використані целюлозні іоніти. На колонці з діетиламіноетилцелюлозою (ДЕАЕ) адсорбували ОР, що мають кислотні властивості (кислотна група), а на колонці з карбоксиметилцелюлозою (КМ) - ОР основного характеру (основна група). Сполуки, що залишились у фільтраті після пропускання води через колонки з ДЕАЕ і КМ целюлозами, складають нейтральну групу. Десорбцію кислотної групи ОР проводять поетапно: спочатку як елюент використовували 0,3 моль/л NaOH. Одержали фракцію К1, в якій елюювались розчинені ОР кислотної групи. Потім колонку промивали невеликим об'ємом сірчаної кислоти (0,02 моль/л) для зруйнування колоїдів неорганічного походження. Після цього на колонку вносили невеликий об'єм 0,3 моль/л розчину NaOH і одержали фракцію К3, що являє собою гумусові речовини (ГР), адсорбовані колоїдами. Для десорбції основної групи використовували 0,1 моль/л розчин HCl. Речовини нейтральної групи концентрували, тому що концентрації складаючих її сполук були настільки малі, що їх визначення було затруднене. Для цього скористалися найбільш "м'яким" способом - виморожуванням, яке не викликає суттєвих змін хімічного складу зразка (Линник, Набиванець, 1986). Ступінь концентрування при цьому звичайно не перевищував 8 - 10 разів.

Концентрати кожної із груп ОР (К1, основної та нейтральної) розділяли за молекулярною масою (ММ) з використанням методу гель-проникаючої хроматографії на нейтральних сефадексах (мал. 1). Використовувались сефадекси марки G - 15, G - 25, G - 75 виробництва фірми "Pharmacia" (Швеція).

Аліквотну частину концентрованого розчину кожної із груп ОР вносили на хроматографічну колонку, заповнену сефадексом однієї з перерахованих марок. В процесі розділення збирали 18 - 25 фракцій. Вміст міді у фракціях визначали після попереднього фотохімічного окислення. Крім того, у фракціях визначали вміст органічних речовин. Згідно схеми І. С. Сироткіної (1977) в кислотній групі визначали вміст гумінових і фульвокислот, фенолів, низькомолекулярних органічних кислот; в основній - білків та амінокислот; в нейтральній полісахаридів і вільних



Мал.1. Схема дослідження форм міграції металів у поверхневих водах.

редукованих сахарів, сечовину.

Вміст міді в тканинах риб визначали атомно-абсорбційним методом у подум'яному варіанті атомізації зразків. Переведення тканин у розчин здійснювали методом "мокрого" спалювання в суміші азотної та сірчаної кислот у співвідношенні 3 : 1. Для аналізу в риб відбирали печінку і білі скелетні м'язи.

В лабораторних умовах проводили досліди по з'ясуванню впливу водного середовища на тканинне накопичення міді у риб. Концентрації досліджуваного елемента знаходились на рівні вмісту у природній воді, або перевищували його в 2 - 100 разів. Підвищений вміст металу створювався внесенням солей міді, а різний ступінь зв'язування - введенням додаткової кількості ОР (гумату натрію) чи розведенням початкової води. Досліди проводились в акваріумах із оргскла об'ємом 100 л, чи пластикових басейнах об'ємом 0,5 м<sup>3</sup>. У кожному з акваріумів, включаючи контрольний, поселяли по 6 екз. риб середньої маси 180 - 200 г. На протязі експерименту риби не годувались. Концентрація кисню у воді підтримувалась з допомогою мікропроцесорів. Температура у період дослідів коливалась у межах 18 - 19 ° С. Гідробіонти витримувались в таких умовах одну, три або десять діб. Хемілюмінесцентним методом контролювався загальний вміст розчиненої у воді міді та форми її існування. Паралельно усі заміри проводились у контрольних акваріумах.

Технічні міроприємства по отриманню ікри від самок проводили традиційними рибоводними методами.

Також наведена коротка фізико-географічна характеристика досліджуваних об'єктів.

В третьому розділі приводяться дані, що характеризують форми міграції міді (II) і особливості їх співвідношення у водоямах комплексного призначення, в якості котрих досліджувались водосховища дніпровського каскаду та гирлова частина Дунаю. Показано, що зв'язування іонів міді в комплексні сполуки визначається сезонним розподілом POP. У всі сезони року, окрім весняної повені, в складі POP домінують ОР з молекулярною масою (ММ) < 0,25 - 5 тис. а. о. н. У період весняної повені суттєво зростає доля високомолекулярних ОР (ММ 30 - 50 та 60 - 70 тис. а. о. н.). Сезонна динаміка молекулярно - масового розподілу комплексних сполук міді аналогічна такій же для POP.

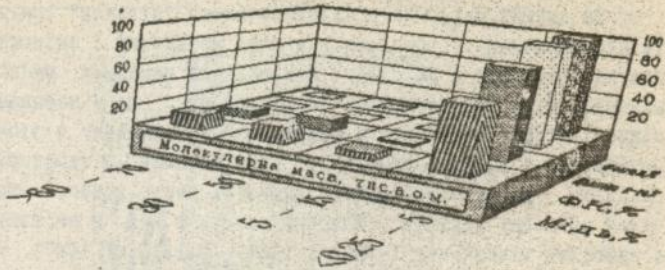
Розподіл міді серед комплексних сполук різної природи має неоднорідний характер. Домінуюче становище займають аніонні комплекси. Їх вміст у різні сезони року змінювався від 46 до 60 % загальної суми зв'язаних форм металу, складаючи в середньому, за рік 54 %. Дещо меншу участь у зв'язуванні іонів  $Cu^{2+}$  грають ОР нейтральної групи. Вміст їх комплексів із міддю коливається на протязі року від 20 до 37 %, становлячи в середньому 27 % валового вмісту комплексних сполук. Відносна доля катіонних комплексів найменша і становить в середньому за рік біля 19 %, при діапазоні коливань - 16 - 24 %.

Більш детально, гель-хроматографічне фракціонування зразків води дозволило встановити природу комплексних сполук міді (мал. 2). Так, серед аніонних комплексів найбільшу здатність до зв'язування проявляють ліганди гумусової природи (гумінові (ГК) - та фульвокислоти (ФК), що підтверджується спільною появою на вихідній кривій вказаних речовин. Переважне зв'язування ВМ гумусовими речовинами відзначалось також іншими авторами ( Варшал, 1985; Лапін, 1986; Disssanayake, 1983; Verweijw etc., 1989). Дослідження молекулярно-масового розподілу (ММР) сполук міді та гумусових речовин показало, що фракції з відносно меншою молекулярною масою зв'язують іони міді більш активно. Знайдені в ході дослідження низькомолекулярні речовини в зв'язуванні іонів міді суттєвої ролі не відіграють.

Основними лігандами, що утворюють з міддю катіонні комплекси, є білковоподібні сполуки - білки і поліпептиди різноманітної молекулярної маси. Дослідження ММР показало, що більш високу зв'язуючу здатність проявляють речовини з відносно більш низькою ММ. Серед ОР основної групи участь у комплексоутворенні можуть приймати також амінокислоти та аміни. Однак, в більшості вивчених зразків вміст амінокислот був дуже незначним, а літературні дані свідчать, що відчутна роль їх у зв'язуванні ВМ проявляється при вмісті ліганда не менше 100 мкг/л (Стумм, 1985).

Основним комплексоутворюючим агентом серед речовин, що мають нейтральний заряд, є вуглеводи. На хроматограмі виходу цих сполук ідентифіковано два піки, які відповідають полісахаридам і моносахаридам. Серед них перші характеризуються значно більшою здатністю до комплексоутворення ніж моносахаридами.

### Кислотна група



### Основна група



### Нейтральна група

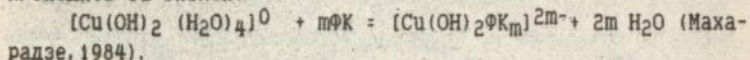


Мал. 2. Молекулярно - масовий розподіл POP і комплексних сполук міді різної природи

Сезонні зміни співвідношення сполук міді подано на мал. 3.

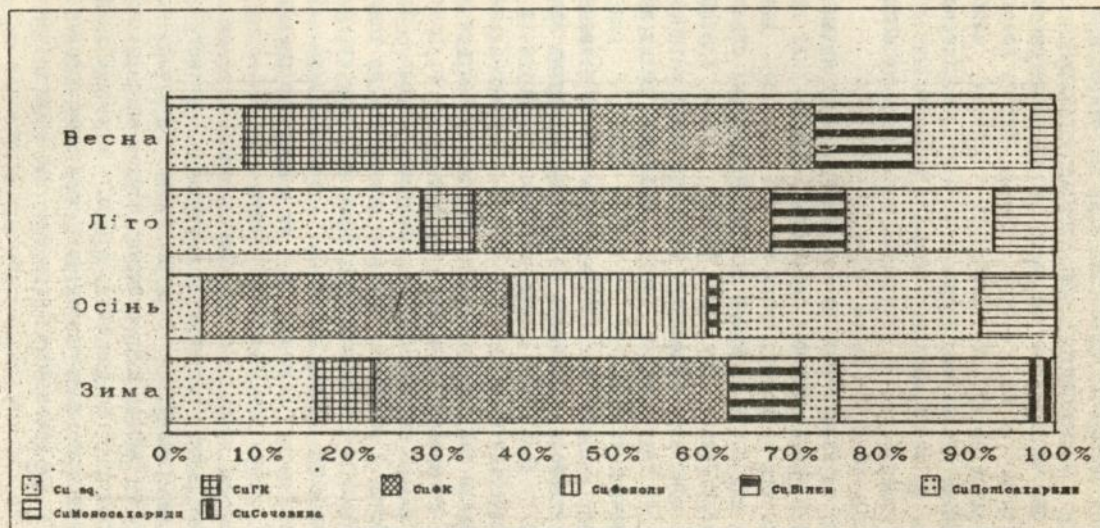
За даними натурних досліджень вміст "вільних" іонів міді та неорганічних її комплексів у воді незначний і змінюється на протязі року від 4 до 29 %. Максимальні величини вмісту акваіонів міді спостерігались в літній час, що є небажаним для гідробіонтів, які мають у цей період максимальну фізіологічну активність і здатні акумулювати іони металів. Літературні дані свідчать, що акваіони мають здатність легше всього проникати через мембрану клітини і накопичуватися у ній, в зв'язку з чим є найбільш токсичними (Vymazal, 1984; Dallinger, 1987). У роботах, присвячених вивченню форм міграції ВМ (Линник, 1986, 1990; Линник, Набиванець, 1991) також відзначається зниження комплексоутворюючої здатності води у літній час, що пояснюється розведенням вод у період повені і відповідним зниженням концентрації РОР. Цей висновок підтверджується також нашими даними, які свідчать про різке зниження доли гуматних і фульватних комплексів міді в літній час порівняно з весняним періодом (мал. 3). Найменший вміст  $Cu^{2+}$  спостерігався в осінній період, що, на наш погляд, скоріше всього пов'язано з надходженням у водойму органічних речовин - продуктів метаболізму гідробіонтів.

Вміст гідроксоформ  $Cu(II)$  невеликий. На думку (Pagenkopf, 1986; Алабастер, Ллойд, 1984; O'Donnel, 1983) токсичність утворених в результаті гідролізу форм міді значно менша, ніж "вільних" іонів  $Cu^{2+}$ . Однак, у рівноважній системі дигідроксикомплекс вступає у взаємодію з ФК з утворенням гідроксофульватних комплексів міді. Реакція вірогідніше усього проходить за схемою:



Токсичність же сполук ВМ з органічними речовинами води різко знижується (Линник, Набиванець, 1981, 1986).

Результати хроматографічного розділення речовин у водоймах комплексного призначення (на прикладі Канівського водосховища) показали, що відносно високий вклад в утворення комплексів міді вносять сполуки гумусової природи (63,8% весною і 26,2% літом). Доля фульватних комплексів міді  $CuФК$  коливається в межах 22,0 - 40,0 %, а гуматних  $CuГК$  - 5,0 - 39,0 %. Згадані



Мал.3. Співвідношення комплексних сполук міді у воді Канівського водосховища.

комплекси міді характеризуються високою міцністю. Зокрема, логарифм умовної константи стійкості мідь - фульватних комплексів при  $pH = 7$  становить 7 - 8, а мідь - гуматних - 8 - 9. Зважаючи на це, а також на той факт, що ГК мають високу ММ, можна припустити, що 26,0 - 64,0 %  $Cu_{розч}$  будуть малотоксичними для гідробіонтів. У сезонному аспекті найбільший відносний вміст згаданих комплексів міді спостерігався у весняний час, що пов'язано зі збільшенням надходженням лігандів з поверхні водозбору. В літній час доля згаданих комплексів мінімальна.

У складі зв'язаних форм  $Cu$  встановлена також наявність 11 комплексів з білковоподібними сполуками. Однак, доля їх невелика і змінюється на протязі року від 1,3 до 11,3 %, досягаючи максимальних значень у весняний період. Відзначені сполуки мають високу молекулярну масу (30 - 70 тис. а.о.м. і більше), а також високу константу стійкості, логарифм якої змінюється в межах 9 - 12 (Лапін та ін., 1985). Найменший вміст вказаних сполук відзначено осінню.

Як видно з мал. 3, істотну роль в зв'язуванні міді відіграють вуглеводи і особливо їх високомолекулярна фракція - полісахариди. Доля цих комплексів в загальній сумі  $Cu_{розч}$  коливається у межах 4,3 - 29,3 %. Максимальний вміст комплексів міді з полісахаридами спостерігається осінню, що, певно, обумовлено масовим відмиранням гідробіонтів. Мінімальний вміст приурочений до зимового періоду. Відносно величини константи стійкості згаданих комплексів не існує єдиної точки зору. Є відомості про невисоку стійкість вуглеводистих сполук з  $BM$  (Єдигарова та ін., 1989). Проте, згадані сполуки мають високі величини ММ, що дозволяє віднести їх до групи малодоступних для живого організму.

В результаті проведених досліджень знайдено також незначний вміст комплексних сполук міді з фенолами, амінокислотами, сечовиною, моносахаридами (мал. 3). Наявні в літературі дані про константи стійкості перерахованих сполук свідчать про незначну їх стійкість, що при зміні фізико - хімічних умов середовища може призвести до дисоціації подібних сполук і їх трансформації. Це також можна віднести і до неорганічних комплексів міді.

Отримані результати дозволили розділити співіснуючі у воді форми міді за ступенем їх токсичності для гідробіонтів, хоча ми розуміємо, що найбільш адекватно про токсичність речовин можна судити тільки на основі результатів біотестування (табл. 1).

Таблиця 1.

Вміст різних за токсичністю форм міді у воді Канівського водосховища.

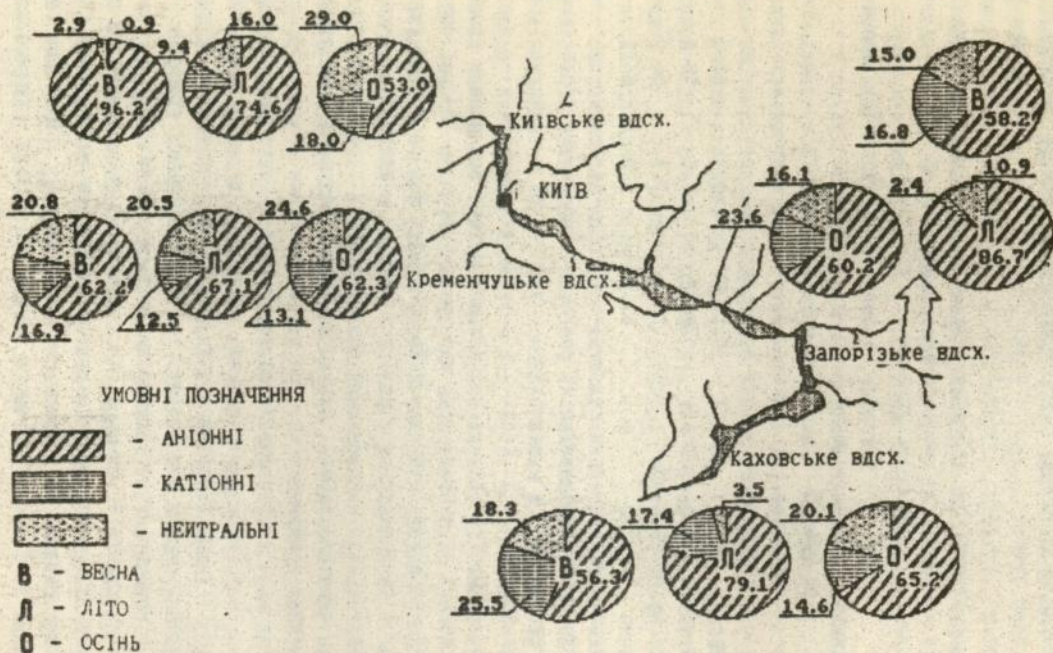
Сезон	Cu роз, мкг/л	Токсичні форми		Малотоксичні форми	
		мкг/л	%	мкг/л	%
Весна	11,6	1,3	11,7	10,3	88,3
Літо	10,0	4,4	44,2	5,6	55,8
Осінь	5,1	1,8	35,1	3,3	64,9
Зима	10,0	4,1	41,2	5,9	58,8

ГДК лит. 1000 мкг/л

ГДК риб. гос. 1 мкг/л

Як видно із таблиці 1, більша частина розчинених сполук міді (55,8 - 88,3 %) не може чинити на організм гідробіонтів токсичного впливу. Найбільш небезпечні для них обставини складуться у водоймах в період літньої вегетації, коли спостерігається максимальний вміст "вільних" іонів міді та її неорганічних сполук, а кількість малодоступних, неактивних форм металу найменша.

Вивчення комплексних сполук міді у водосховищах дніпровського каскаду (мал. 4) показало, що як у Канівському, так і в інших водосховищах Дніпра на протязі року у складі комплексних сполук переважають комплекси аніонної природи. Їх вміст у середньому по каскаду змінюється від 96%  $Cu_{\text{компл.}}$  в Київському до 56 %  $Cu_{\text{компл.}}$  в Каховському водосховищі. В переважній більшості випадків дещо менший вміст нейтральних сполук, що складає в середньому 27 %  $Cu_{\text{компл.}}$ . Відносна доля катіонних комплексів практично завжди мінімальна. Оцінка ком-



Мал.4. Сезонна динаміка катіонних, аніонних і нейтральних сполук міді у воді водосховищ Дніпра

понентного складу POP за вмістом білків, вуглеводів, а також характерним співвідношенням ПО/Сорг, ПО/ВО показала, що основним компонентом POP, який утворює комплексні сполуки з міддю, є ароматичні сполуки гумусової природи. В період весняної повені вміст гумусових речовин підкоряється закону фізико-географічної зональності і зменшується з півночі на південь. Аналогічна тенденція спостерігається і в зміні аніонних сполук міді. Під час літньої вегетації і особливо осінньої межени для вказаної закономірності порушується, що, на наш погляд, обумовлено впливом гідрологічного режиму (зарегульованість, затримка весняних вод в нижчерозташованих водосховищах). Чимале значення грає також інтенсифікація процесів продукції в замкненому водосховищі (Денисова, 1979, 1989).

Співвідношення комплексних сполук міді у воді української ділянки Дунаю характеризується наступним. В середньому 74 % міді знайдено у вигляді аніонних комплексних сполук, 20 % - нейтральних і 6 % - катіонних. Гель-хроматографічне розділення аніонних комплексів  $Cu(II)$  показало, що серед останніх домінують комплекси з фульвокислотами (CuФК). Вміст фульвокислот у воді української ділянки Дунаю складає біля 9 мг/л і ними було зв'язано близько 48 % міді. Істотну роль в комплексоутворенні металу грають також сполуки фенольного типу, на долю яких припадає більше 25 % міді. В утворенні позитивнозаряджених комплексів найбільш помітну участь приймають білкові сполуки з ММ 60 - 70 та 30 - 50 тис. а. о. м., з якими зв'язано 2,4 %  $Cu_{розч}$ . Вміст білків досягав 0,2 мг/л. Нейтральні сполуки міді утворені в основному з вуглеводами. Вміст останніх в середньому 1,69 мг/л, в тому числі полісахаридів - 0,45 мг/л, моносахаридів - 1,24 мг/л. Домінування моносахаридів обумовило більш активну їх участь у комплексоутворенні міді. За даними НМР з моносахаридами (М/с) елюється 15,1 %  $Cu_{розч}$ , а з полісахаридами (П/с) - 5,2 %  $Cu_{розч}$ . Найбільшу зв'язуючу здатність має фракція з ММ 5 - 15 тис. а. о. м. Загальний баланс сполук міді у воді Дунаю в період осінньої межени є такий:

$$Cu_{розч} = 3,5\% [Cu^{2+}] + 48,0\% [CuФК] + 25,8\% [CuФенол] + 2,4\% [CuБілок] + 5,2\% [CuП/с] + 15,1\% [CuМ/с]$$

Таким чином, більша частина міді зв'язана в комплекси з POP, в тому числі високої молекулярної маси, що сприяє їх детокси-

каші та стійкості гідробіонтів до забруднення ВМ.

Важливою характеристикою "буферної ємності" водної екосистеми є комплексоутворююча здатність (КЗ) РОР води. Вона грає велику роль в розумінні накопичення і токсичності іонів металів, що потрапляють в природну воду. КЗ являє собою кількість металу, яку можуть зв'язати наявні у воді органічні сполуки, а точніше сказати їх "активн." центри координації. Проведені на прикладі Київського водоймища дослідження КЗ показали, що вона істотна і змінюється на протязі року в широких межах - 200 - 340 мкг/л з максимумом весною, коли серед лігандів домінують гумусові речовини аллохтонного походження. В літній період на фоні зниження вмісту ГР спостерігалось зменшення КЗ. Звертає увагу велика зв'язуюча здатність ФК. Отримані результати дозволили встановити взаємозв'язок між величиною КЗ і вмістом у воді ГР, величина коефіцієнту кореляції при цьому склала 0,74. Відзначений факт дозволив зробити висновок, що води досліджуваного об'єкту мають певний запас буферної ємності і здатні до детоксикації ВМ. При вивченні кінетики комплексоутворення встановлено, що переважна частина внесеного в систему металу зв'язувалась на протязі першої доби. Для зв'язування 90 % добавленої міді, як свідчать розрахунки, весною і осінню буде потрібно біля 3 - 4 діб, а літом ця величина збільшиться до 10 діб.

На основі проведених модельних дослідів встановлено, що КЗ окремих компонентів РОР значно відрізняється. Найбільші зв'язуючі здібності мають полімери різної молекулярної маси - ФК, білки, ГК.

В четвертому розділі подано результати дослідження співвідношення комплексних сполук міді в водоймах спеціального (рибогосподарського) призначення. В практиці риборозведення досить часто спостерігаються випадки, коли концентрація біоелементів у воді істотно перевищує біотичні дози, досягаючи гранично допустимих величин, однак токсикофармакологічної дії металів на організм риб не спостерігається. Це говорить про те, що в зазначених водоймах значна доля розчинених у воді життєвонеобхідних біоелементів знаходиться у закомплексованому стані і є або нетоксичними, або важкодоступними для біоаккумуляції організмом.

Виконані на прикладі міді дослідження форми міграції металу у воді Київського тепловодного рибного господарства показали, що розчинена у воді мідь характеризується високим ступенем закомплексованості (73 - 97 %) значно вищим ніж у районі водозабору. Що торкається якісного складу комплексних сполук, то було виявлено суттєве зниження ролі ОР аніонної природи в зв'язуванні міді. Спостерігався збільшений вміст катіонних комплексів, що складав 60 - 70 %. Останнє малохарактерне для водойм комплексного призначення. Цей факт пояснюється великим скупченням видоспецифічних метаболітів риб, зумовленим високою щільністю їх посадки, а також продуктів розпаду комбікормів. Основним комплексоутворюючим лігандом у цьому випадку виступають білки та поліпептиди. Дещо меншу роль у зв'язуванні сполук міді відіграють речовини нейтральної групи, серед яких виділяється роль вуглеводів. В найменшій мірі в комплексоутворенні приймають участь сполуки аніонної природи - гумусові речовини. На підставі отриманих даних розраховано вміст токсичних і малодоступних (неактивних) форм металу.

Найменший вміст токсичних форм металу спостерігався навесні, коли проводиться зариблення басейнів і садків. Важливо відзначити, що концентрації міді не перевищують показників, обумовлених вимогами Держстандарту для рибогосподарських водойм. Подібний ефект досягається за рахунок комплексоутворюючих властивостей алаохтонних ОР гумусової природи. На відміну від водоймиш комплексного призначення значну роль у цьому процесі відіграють білкові сполуки, які накопичуються в результаті біотехнічних міроприємств по вирощуванні риби.

Таблиця 2.

Вміст різних за токсичністю форм міді у воді рибоводного комплексу Київської ТЕЦ - 5, мкг/л.

Сезон	Малодоступні та неактивні форми	Токсичні форми	ГДК риб.
Весна	7,0	1,0	1,0
Літо	6,7	3,3	1,0
Осінь	2,7	2,3	1,0
Зима	4,6	2,4	1,0

Влітній період, який співпадає за часом з інтенсивним нагулом риби, вміст токсичних форм міді перевищує величини, передбачені вимогами ГДК, більше ніж у 3 рази, а доля найбільш небезпечних акваіонів досягає 20 % загального вмісту  $Cu_{розч}$ . Подібні умови можуть сприяти активній біоаккумуляції металу органами і тканинами вирощуваних риб. Відзначене збільшення токсичних форм міді в літній час спостерігалось нами також у водах Канівського водосховища. За результатами хроматографічного розділення РОР води басейнів основними комплексуючими агентами у цей період виступають ГК і ФК, полісахариди.

Осіною і зимою вміст токсичних форм міді був приблизно однаковим і перевищував гранично допустимі значення у 2 рази (табл. 2), що також приводить до формування у басейнах несприятливої токсикологічної обстановки щодо міді. Основну участь у зв'язуванні  $Cu$  в цей період відіграють гумусові кислоти та білкові речовини.

У водах ставкового господарства Ладжинської ГРЕС на фоні більш високого вмісту  $Cu_{розч}$  (16 - 32 мкг/л) співвідношення комплексних сполук металу значно відрізняється від такого ж у воді басейнового тепловодного рибного господарства. По мірі зменшення ряд комплексних сполук міді різної природи ( % ) має наступний вид: аніонні > катіонні > нейтральні. Подібні відмінності пояснюються значно меншою щільністю посадки риб і, як наслідок, меншим надходженням екзометаболітів та залишків корму, а також більш інтенсивним протіканням внутрішньоводоймищних процесів у ставках. Розділення кожної із виділених груп сполук методом гелю - проникаючої хроматографії дозволило встановити роль у зв'язуванні металу окремих органічних сполук та скласти баланс її співіснуючих форм у воді рибоводних господарств. Неприятливі умови існування риб відзначені нами і у водах ставкового господарства Ладжинської ГРЕС. Вміст токсичних форм міді на протязі року в 4 - 7 разів перевищував нормативи рибогосподарських ГДК.

Таблиця 3.

Вміст різних за токсичністю форм міді у воді ставкового господарства Ладизинської ГРЕС.

Сезон	Cu розч. мкг/л	Токсичні форми		Малодоступні та неактивні форми		ГДК, риб., мкг/л
		мкг/л	%	мкг/л	%	
		Весна	16,0	4,0	25,3	
Літо	16,0	4,6	29,0	11,4	71,0	1,0
Осінь	15,0	-	-	-	-	1,0
Зима	32,0	6,6	20,7	25,4	79,3	1,0

В п'ятому розділі подано результати досліджень впливу розчиненої у воді міді на процеси її споживання водними тваринами. При існуванні риб у воді з підвищеними концентраціями металу спостерігається перевищення його гранично - допустимого рівня в організмі, що може призвести до істотного порушення обмінних процесів і уповільнення темпів росту риби (Євтушенко, 1985). Під час проведення лабораторних досліджень по аклімації ікри і дорослих особин риб до умов підвищеного вмісту міді встановлено, що внесені у воду гідробіонти значно змінюють рівень вмісту металу у воді. Динаміка біонакопичення Cu(II) тканинами гідробіонтів носить багатозафазовий характер. На фоні загальної тенденції споживання металу із середовища періодично спостерігалась екскреція його з організму до рівнів, що перевищували початкові концентрації. Встановлено також факт зростання ступеня закомплексованості металу із збільшенням тривалості аклімації, що обумовлено як зростанням кінетики комплексоутворення, так і додатковим надходженням РОР у вигляді екзосметаболітів риб. Як відомо, при інтоксикації в організмі гідробіонтів можуть вироблятися специфічні білки - металотіонеїни, які здійснюють зв'язування і виведення ВМ із організму. Хроматографічне дослідження води, в яку додатково вносили 100 мкг/л міді, після 10 днів витримування у ній риби,

показало підвищення вмісту комплексних сполук міді з білками і сечовиною порівняно з нативною водою. При цьому концентрація білків збільшилась у 2 рази, а сечовини в 50 разів.

Встановлено, що на кумуляцію міді істотним чином впливає якісний склад РОР. В присутності ГР і вуглеводів накопичення  $Cu(II)$  на 40 % знизилось порівняно з таким же в присутності тільки білкових речовин і вуглеводів.

При проведенні досліджень з різними добавками лігандів однорідної природи значних розбіжностей біонакопичення металу не виявлено, що пов'язано з дією компенсаторних механізмів іонного гомеостазу.

Встановлена дозова залежність тканинного накопичення металу органами і тканинами риб.

### ВИСНОВКИ

1. На основі схеми системного вивчення розчинених органічних речовин поверхневих вод в поєднанні з хемілюмінесцентним методом та методами іонообмінної й гель-проникаючої хроматографії вперше отримані дані про співвідношення різних за хімічною природою груп РОР і зв'язано з ними міді у воді водоймищ комплексного і рибогосподарського призначення.

2. На основі вивчення молекулярно-масового розподілу РОР і комплексних сполук міді з природними органічними лігандами Київського водосховища встановлено, що зв'язування іонів міді в комплексні сполуки залежить від співвідношення і динаміки РОР. На протязі року, крім весняної повені, домінує фракція РОР з  $MM < 0,25 - 5$  тис. а. о. м., в період весняної повені істотно зростає доля фракції з більшою молекулярною масою ( $MM 30 - 50$  і  $> 60 - 70$  тис. а. о. м.).

Серед комплексних сполук міді на протязі року домінують комплекси з відносно невисокою молекулярною масою ( $MM < 0,25 - 5$  тис. а. о. м.). Літом їх доля складає 51 - 72 %, осінню - 42 - 62 %  $Cu$  компл.

В період весняної повені відзначено зростання вмісту високомолекулярних комплексів міді ( $MM > 60 - 70$  тис. а. о. м.).

3. Комплексні сполуки міді різної хімічної природи за їх

відносним вмістом розміщуються по мірі зменшення у слідуєчий ряд: аніонні > нейтральні > катіонні. Домінуючим лігандом серед аніонних органічних сполук міді виступають гумусові речовини (фульвокислоти), серед нейтральних - полісахариди; катіонних - білковоподібні речовини.

4. Вміст аніонних комплексних сполук міді у весняний період зменшується у поздовжньому напрямі каскаду дніпровських водосховищ з півночі на південь від 96 % у Київському до 56 % у Каховському. Під час літньої - осінньої межні відзначена закономірність порушується, що обумовлено особливостями гідрологічного режиму водосховищ.

5. Комплексоутворююча здатність POP досліджених вод, яка визначає ступінь детоксикації важких металів, коливається в досить широких межах (200 - 340 мкг/л), що обумовлено різним компонентним складом POP. Максимальні значення КЗ спостерігались у період весняної повені, мінімальні приурочені до літньої межні.

6. У водоймах рибогосподарського призначення серед комплексних сполук міді різної природи виявлене істотне збільшення долі катіонних комплексів (20 - 72 % Cu розч.). Основним лігандом серед них виступають білковоподібні речовини (продукти метаболізму, розкладу залишків кормів).

7. На основі аналізу співіснуючих форм міді розрахунковим шляхом встановлено, що вміст її доступних і токсичних для гідробіонтів форм у водоймах комплексного і рибогосподарського призначення має тенденцію збільшення в період літньої межні, співпадаючи за часом з інтенсивним нагулом риб. З урахуванням комплексоутворюючої здатності води перевищення рибогосподарських ГДК складає 3 - 7 разів проти 10 - 32, виходячи з розрахунку на сумарну концентрацію розчиненого у воді металу.

8. Ступінь біоаккумуляції міді органами і тканинами риб визначається концентрацією біодоступних форм металу у воді, співвідношення яких залежить від якісного складу POP.

За матеріалами дисертації опубліковані слідуєчі роботи:

1. Евтушенко Н. Ю., Сьтник Ю. М., Осадчая Н. Н. К вопросу о методологии нормирования концентрации тяжелых металлов в водоемах рыбохозяйственного назначения // Всес. конференция "Методоло-

гия экологического нормирования": Тез. докл., - Харьков, апрель 1990г. - Харьков: Б. и., 1990. - ч. II. - С. 128-129.

2. Линник П. Н., Осадчая Н. Н. Роль органических веществ в снижении токсичности тяжелых металлов в водной среде// "Региональные экологические проблемы и пути их решения": Тез. докл., - Черкассы, июнь 1990г. - Черкассы: Б. и., 1990. - С. 47-48.

3. Осадчая Н. Н. Сравнительная оценка роли отдельных органических веществ в связывании металлов в водоемах различного назначения// Всес. научная конференция молодых ученых и специалистов "Оценка состояния, охрана и рациональное использование биологических ресурсов водных экосистем в условиях антропогенного воздействия": Тез. докл., - Ростов-на-Дону, март 1990г. - Ростов-на-Дону: Б. и., 1990. - С. 119-121.

4. Евтушенко Н. Ю., Сьтник Ю. М., Осадчая Н. Н. Состояние тяжелых металлов в водоемах рыбохозяйственного назначения и их влияние на рыб// Региональное совещание "Методы и приборы для экологических исследований": Тез. докл., Иркутск, сентябрь 1990. - Иркутск: Б. и., 1990г. - С. 57 - 58.

5. Евтушенко Н. Ю., Сьтник Ю. М., Осадчая Н. Н. Накопление Си и Мп рыбами и формы их нахождения в воде тепловодного рыбного хозяйства Ладжинской ГРЭС// IV Всес. совещание по рыбохозяйственному использованию теплых вод: Тез. докл., г. Курчатова, Курской, октябрь 1990. - Москва: Б. и., 1990. - С. 239 - 240.

6. Евтушенко Н. Ю., Сьтник Ю. М., Осадчая Н. Н. Формы нахождения меди и марганца в воде и накопление их рыбами водоема-охладителя Ладжинской ГРЭС// Респ. научно-технич. конфер. "Экологические проблемы теплоэнергетики": Тез. докл., г. Одесса, октябрь 1990. - Киев: Б. и., 1990. - С. 88 - 89.

7. Осадчая Н. Н. Гель-хроматографическое исследование растворенных органических веществ и связанной с ними меди в воде Киевского водохранилища// "Актуальные вопросы водной экологии": Материалы Всес. конфер. молодых ученых, Киев, 1990. - Киев: Б. и., - С. 126 - 130.

8. Евтушенко Н. Ю., Сьтник Ю. М., Осадчая Н. Н. Формы нахождения тяжелых металлов в воде и накопление их рыбами в условиях тепловодного выращивания// Вторая всес. конфер. по рыбохозяйственной токсикологии: Тез. докл., г. Санкт-Петербург, 1991. - Санкт-Петербург: Б. и., 1991. - С. 178 - 180.

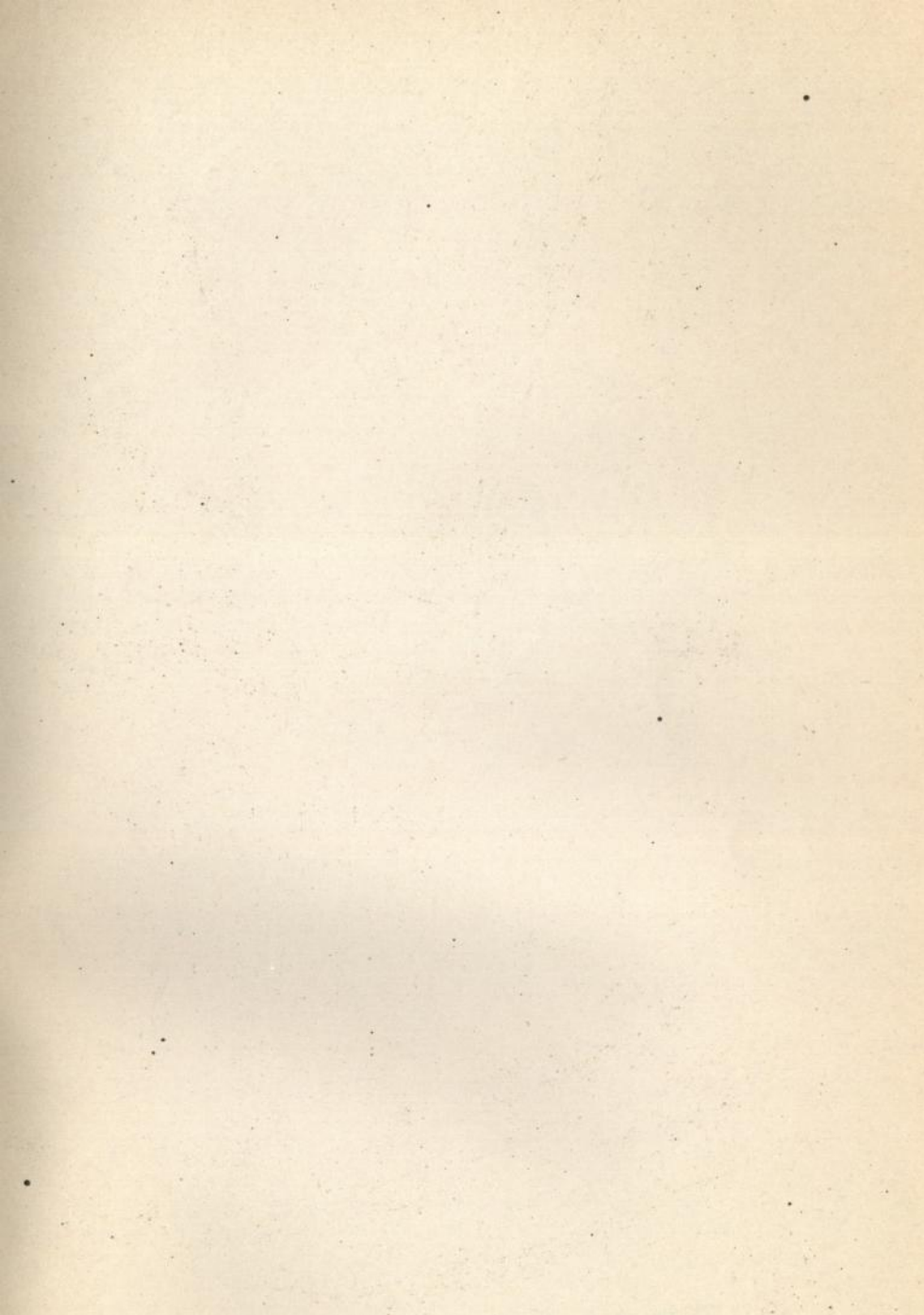
9. Евтушенко Н. Ю., Линник П. Н., Сытник Ю. М., Осадчая Н. Н. Некоторые аспекты нормирования концентрации тяжелых металлов в водоемах, подверженных антропогенному влиянию. Там же. - С. 182 - 184.

10. Линник П. Н., Осадчая Н. Н. Молекулярно-массовое распределение растворенных органических веществ и связанной с ними меди (II) в воде Киевского водохранилища // Гидробиол. журн. - 1991. - 27, №2. - С. 93 - 99.

11. Осадчая Н. Н., Линник П. Н. Изучение молекулярно-массового распределения растворенных органических веществ в воде Киевского водохранилища // Гидроэкологические проблемы внутренних водоемов Украины. - Киев: Наук. думка, 1991. - С. 3 - 9.

12. Линник П. Н., Осадчая Н. Н., Набиванец Ю. Б., Евтушенко Н. Ю. Оценка физико-химического состояния тяжелых металлов в воде Дуная на различных его участках // Водн. ресурсы, 1993. - 20, №4. - С. 449 - 454.

18. 19. 20. 21. 22. 23. 24. 25. 26. 27. 28. 29. 30. 31. 32. 33. 34. 35. 36. 37. 38. 39. 40. 41. 42. 43. 44. 45. 46. 47. 48. 49. 50. 51. 52. 53. 54. 55. 56. 57. 58. 59. 60. 61. 62. 63. 64. 65. 66. 67. 68. 69. 70. 71. 72. 73. 74. 75. 76. 77. 78. 79. 80. 81. 82. 83. 84. 85. 86. 87. 88. 89. 90. 91. 92. 93. 94. 95. 96. 97. 98. 99. 100. 101. 102. 103. 104. 105. 106. 107. 108. 109. 110. 111. 112. 113. 114. 115. 116. 117. 118. 119. 120. 121. 122. 123. 124. 125. 126. 127. 128. 129. 130. 131. 132. 133. 134. 135. 136. 137. 138. 139. 140. 141. 142. 143. 144. 145. 146. 147. 148. 149. 150. 151. 152. 153. 154. 155. 156. 157. 158. 159. 160. 161. 162. 163. 164. 165. 166. 167. 168. 169. 170. 171. 172. 173. 174. 175. 176. 177. 178. 179. 180. 181. 182. 183. 184. 185. 186. 187. 188. 189. 190. 191. 192. 193. 194. 195. 196. 197. 198. 199. 200. 201. 202. 203. 204. 205. 206. 207. 208. 209. 210. 211. 212. 213. 214. 215. 216. 217. 218. 219. 220. 221. 222. 223. 224. 225. 226. 227. 228. 229. 230. 231. 232. 233. 234. 235. 236. 237. 238. 239. 240. 241. 242. 243. 244. 245. 246. 247. 248. 249. 250. 251. 252. 253. 254. 255. 256. 257. 258. 259. 260. 261. 262. 263. 264. 265. 266. 267. 268. 269. 270. 271. 272. 273. 274. 275. 276. 277. 278. 279. 280. 281. 282. 283. 284. 285. 286. 287. 288. 289. 290. 291. 292. 293. 294. 295. 296. 297. 298. 299. 300. 301. 302. 303. 304. 305. 306. 307. 308. 309. 310. 311. 312. 313. 314. 315. 316. 317. 318. 319. 320. 321. 322. 323. 324. 325. 326. 327. 328. 329. 330. 331. 332. 333. 334. 335. 336. 337. 338. 339. 340. 341. 342. 343. 344. 345. 346. 347. 348. 349. 350. 351. 352. 353. 354. 355. 356. 357. 358. 359. 360. 361. 362. 363. 364. 365. 366. 367. 368. 369. 370. 371. 372. 373. 374. 375. 376. 377. 378. 379. 380. 381. 382. 383. 384. 385. 386. 387. 388. 389. 390. 391. 392. 393. 394. 395. 396. 397. 398. 399. 400. 401. 402. 403. 404. 405. 406. 407. 408. 409. 410. 411. 412. 413. 414. 415. 416. 417. 418. 419. 420. 421. 422. 423. 424. 425. 426. 427. 428. 429. 430. 431. 432. 433. 434. 435. 436. 437. 438. 439. 440. 441. 442. 443. 444. 445. 446. 447. 448. 449. 450. 451. 452. 453. 454. 455. 456. 457. 458. 459. 460. 461. 462. 463. 464. 465. 466. 467. 468. 469. 470. 471. 472. 473. 474. 475. 476. 477. 478. 479. 480. 481. 482. 483. 484. 485. 486. 487. 488. 489. 490. 491. 492. 493. 494. 495. 496. 497. 498. 499. 500. 501. 502. 503. 504. 505. 506. 507. 508. 509. 510. 511. 512. 513. 514. 515. 516. 517. 518. 519. 520. 521. 522. 523. 524. 525. 526. 527. 528. 529. 530. 531. 532. 533. 534. 535. 536. 537. 538. 539. 540. 541. 542. 543. 544. 545. 546. 547. 548. 549. 550. 551. 552. 553. 554. 555. 556. 557. 558. 559. 560. 561. 562. 563. 564. 565. 566. 567. 568. 569. 570. 571. 572. 573. 574. 575. 576. 577. 578. 579. 580. 581. 582. 583. 584. 585. 586. 587. 588. 589. 590. 591. 592. 593. 594. 595. 596. 597. 598. 599. 600. 601. 602. 603. 604. 605. 606. 607. 608. 609. 610. 611. 612. 613. 614. 615. 616. 617. 618. 619. 620. 621. 622. 623. 624. 625. 626. 627. 628. 629. 630. 631. 632. 633. 634. 635. 636. 637. 638. 639. 640. 641. 642. 643. 644. 645. 646. 647. 648. 649. 650. 651. 652. 653. 654. 655. 656. 657. 658. 659. 660. 661. 662. 663. 664. 665. 666. 667. 668. 669. 670. 671. 672. 673. 674. 675. 676. 677. 678. 679. 680. 681. 682. 683. 684. 685. 686. 687. 688. 689. 690. 691. 692. 693. 694. 695. 696. 697. 698. 699. 700. 701. 702. 703. 704. 705. 706. 707. 708. 709. 710. 711. 712. 713. 714. 715. 716. 717. 718. 719. 720. 721. 722. 723. 724. 725. 726. 727. 728. 729. 730. 731. 732. 733. 734. 735. 736. 737. 738. 739. 740. 741. 742. 743. 744. 745. 746. 747. 748. 749. 750. 751. 752. 753. 754. 755. 756. 757. 758. 759. 760. 761. 762. 763. 764. 765. 766. 767. 768. 769. 770. 771. 772. 773. 774. 775. 776. 777. 778. 779. 780. 781. 782. 783. 784. 785. 786. 787. 788. 789. 790. 791. 792. 793. 794. 795. 796. 797. 798. 799. 800. 801. 802. 803. 804. 805. 806. 807. 808. 809. 810. 811. 812. 813. 814. 815. 816. 817. 818. 819. 820. 821. 822. 823. 824. 825. 826. 827. 828. 829. 830. 831. 832. 833. 834. 835. 836. 837. 838. 839. 840. 841. 842. 843. 844. 845. 846. 847. 848. 849. 850. 851. 852. 853. 854. 855. 856. 857. 858. 859. 860. 861. 862. 863. 864. 865. 866. 867. 868. 869. 870. 871. 872. 873. 874. 875. 876. 877. 878. 879. 880. 881. 882. 883. 884. 885. 886. 887. 888. 889. 890. 891. 892. 893. 894. 895. 896. 897. 898. 899. 900. 901. 902. 903. 904. 905. 906. 907. 908. 909. 910. 911. 912. 913. 914. 915. 916. 917. 918. 919. 920. 921. 922. 923. 924. 925. 926. 927. 928. 929. 930. 931. 932. 933. 934. 935. 936. 937. 938. 939. 940. 941. 942. 943. 944. 945. 946. 947. 948. 949. 950. 951. 952. 953. 954. 955. 956. 957. 958. 959. 960. 961. 962. 963. 964. 965. 966. 967. 968. 969. 970. 971. 972. 973. 974. 975. 976. 977. 978. 979. 980. 981. 982. 983. 984. 985. 986. 987. 988. 989. 990. 991. 992. 993. 994. 995. 996. 997. 998. 999. 1000.





462975

AB 28.594