Оптимизация процедуры определения полициклических ароматических углеводородов в черноморских донных отложениях

Цымбалюк К.К.[1], Деньга Ю.М.[1], Антонович В.П.[2]

[1]-Украинский научный центр экологии моря, 65009, Одесса, Французский бульвар, 89, e-mail: kiorgg@yahoo.com

[2]-Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, 65080, Одесса, Люстдорфская дорога, 86, e-mail: antonovichvp@ukr.net

Поступила в редакцию: 22 декабря 2010г. / Принята к публикации: 29 января 2011 г.

Проведена оптимизация процедуры определения полициклических ароматических углеводородов в донных отложениях Черного моря методом хромато-масс-спектрометрии. Показано преимущество использования для экстракции ПАУ бинарных смесей органических растворителей. Оптимизирована стадия очистки экстрактов от серы и серосодержащих соединений с использованием элементной меди. Оптимизированная методика апробирована на стандартном образце донных отложений SRM IAEA – 383.

TSYMBALIUK K.K., DENGA U.M., ANTONOVICH V.P. OPTIMIZATION PROCEDURE OF DETERMINATION POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN BLACK SEA SEDIMENTS - Optimization procedure of determination polycyclic aromatic hydrocarbons in Black sea sediments was performed. Advantage use of binary mixes of organic solvents for PAHs extraction was shown. The cleaning stage from sulfur and sulfur containing compounds with elemental copper was optimized. The optimized method was approved on standard reference material SRM IAEA – 383.

Ключевые слова: Определение полициклических ароматических углеводородов, Сокслет-экстракция, хромато-масс-спектрометрия, донные отложения

Keywords: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, Soxhlet-extraction, GC-MS, sea sediments

ВВЕДЕНИЕ

Общемировое глобальное загрязнение окружающей среды и неблагоприятная экологическая ситуация в промышленных районах обуславливают необходимость постоянного эколого-аналитического контроля качества воздуха, природных вод и накопления опасных соединений в почвах и донных отложениях.

В соответствии с разными международными соглашениями около 60 химических веществ вошли в списки, которые предусматривают ограничение их распространения и обязательный контроль содержаний в объектах окружающей среды. Из этих списков выделена группа стойких органических загрязнителей (СОЗ), названных “грязной дюжиной”: алдрин, эндрин, диэлдрин, мирекс, ДДТ, гексахлорбензол, гептахлор, токсафен, хлордан, полихлорированные бифенилы, дибензо-*п*-диоксины и дибензофураны. В 2003 г. в рамках проекта, направленного на проведение оценки угрозы СОЗ для окружающей среды и здоровья человека, ООН рекомендовала расширить перечень контролируемых химических соединений, включив в него 16 приоритетных полициклических ароматических углеводородов (ПАУ, полиарены, табл. 1) и шесть эфиров фталевой кислоты.

Гидрофобные СОЗ трудно подвергаются фотолитическому, химическому и биологическому разложению, легко перемещаются в природной среде, в том числе по пищевым цепям, что приводит к биоконцентрированию этих токсикантов в жировых тканях.

ПАУ – ограниченно-летучие стойкие органические загрязнители – обладают канцерогенным, мутагенным, тератогенным, гепатотоксическим действиями. Они способны аккумулироваться в липидных тканях живых организмов и вызывать разные тяжелые заболевания.

Группа полициклических ароматических углеводородов насчитывает более 10 000 соединений, а в объектах окружающей среды определяют более 100 ПАУ. Полиарены, которые имеют в своем составе до четырех бензольных колец, известны как “легкие” ПАУ. “Тяжелые” ПАУ, содержащие больше четырех бензольных колец, менее подвержены разложению в окру-

© Цымбалюк К.К., Деньга Ю.М., Антонович В.П.

жающей естественной среде и более токсичны [1].

Основными антропогенными источниками эмиссии полиаренов в окружающую среду являются выбросы промышленных предприятий (образуются при высокотемпературной переработке органического сырья), автотранспорт (в выхлопных газах автомобилей обнаружено более 150 ПАУ), авиация, судоходство, добыча и транспортировка нефти [2, 3].

Таблица 1. Свойства приоритетных ПАУ

Соединение	$t_{кип}$, °C *	Давление паров, кПа при 25 °C *	Log K_{ow} **
Нафталин	218	$1{,}1 \cdot 10^{-2}$	3,30
Аценафтилен	от 265 до 280	$3{,}9 \cdot 10^{-3}$	3,94
Аценафтен	от 278 до 279	$2{,}1 \cdot 10^{-3}$	3,92
Флуорен	от 293 до 295	$8{,}7 \cdot 10^{-5}$	4,18
Фенантрен	от 339 до 340	$2{,}3 \cdot 10^{-5}$	4,46
Антрацен	340	$3{,}6 \cdot 10^{-6}$	4,45
Флуорантен	от 375 до 393	$6{,}5 \cdot 10^{-7}$	5,16
Пирен	от 360 до 404	$3{,}1 \cdot 10^{-6}$	4,88
Бенз(*a*)антрацен	435	$1{,}5 \cdot 10^{-8}$	5,66
Хризен	от 441 до 448	$5{,}7 \cdot 10^{-10}$	5,81
Бенз(*b*)флуорантен	481	$6{,}7 \cdot 10^{-8}$	5,78
Бенз(*k*)флуорантен	от 480 до 481	$2{,}1 \cdot 10^{-8}$	6,11
Бенз(*a*)пирен	от 493 до 496	$7{,}3 \cdot 10^{-10}$	6,13
Индено(1,2,3-*cd*)пирен	525	$1{,}3 \cdot 10^{-11}$	6,70
Дибенз(*a,h*)антрацен	524	$1{,}3 \cdot 10^{-11}$	6,75
Бензо(*g,h,i*)перилен	525	$1{,}3 \cdot 10^{-11}$	6,60

* – данные приведены из работы [14]
** – коэффициенты распределения ПАУ в системе октанол–вода [15]

Из природных источников, создающих фоновый уровень ПАУ, следует отметить их синтез некоторыми растениями и микроорганизмами [4], лесные пожары, вулканическую активность. Параллельно с накоплением ПАУ в окружающей среде происходит и их деградация. Существуют бактерии, способствующие метаболизму ПАУ в водоемах и почве [5], в атмосфере некоторые полиарены частично разлагаются под действием УФ-излучения.

Открытым остается вопрос о количестве ПАУ, которые следует обязательно определять в объектах окружающей среды. Рамочная вводная директива ЕС по экологическим стандартам в области водной политики предлагает проводить мониторинг пяти полиаренов в окружающей среде: бензо(*g,h,i*)перилена, индено (1,2,3-*cd*)пирена, бенз(*b*)флуорантена, бенз(*k*)флуорантена, и бенз(*a*)пирена [6]. Авторы статей [7, 8] рекомендуют определять в объектах окружающей среды 16 приоритетных полиаренов (нафталин, аценафтилен, аценафтен, флуорен, фенантрен, антрацен, флуорантен, пирен, бенз(*a*)антрацен, хризен, бенз(*b*)флуорантен, бенз(*k*)флуорантен, бенз(*a*)пирен, индено(1,2,3-*cd*)пирен, дибенз(*a,h*)антрацен, бензо(*g,h,i)*перилен), предложенных Агентством по защите окружающей среды США (US Environmental Protection Agency, US EPA) [9].

Указанные полиарены наиболее полно характеризуют антропогенное воздействие на окружающую среду.

Рекомендуемые различной нормативно-аналитической документацией методики определения микроколичеств ПАУ в морских донных отложениях [10, 11] предусматривают использование достаточно больших навесок анализируемых седиментов (до 10–20 г), продолжительную и трудоемкую предварительную процедуру извлечения аналитов методом Сокслет-экстракции (16–24 ч), большой расход дорогостоящих высокочистых органических растворителей (гексан, дихлорметан и др.), сложные стадии отделения суммы полиаренов от нецелевых органических веществ, серы и серосодержащих соединений.

Цель работы – оптимизация процедуры пробоподготовки при определении 16 приоритетных ПАУ в донных отложениях Одесского залива.

В работе для идентификации и количественного определения индивидуальных ПАУ в их сложных смесях использовали наиболее эффективный для таких задач метод хромато-масс-спектрометрии после предварительного выделения и концентрирования суммы полиаренов из анализируемых объектов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали следующие приборы и вспомогательное оборудование: хромато-масс-спектрометр Agilent 7890A/5975C, термостат на шесть мест Electromantle ME, а также растворители – гексан, дихлорметан, ацетон, толуол, метанол, гептан, этилацетат – производства фирмы Sigma- Aldrich, квалификации Pesticide Residue Analysis, оксид алюминия и силикагель для колоночной хроматографии, элементную медь (99,8 %, 60 мкм) производства фирмы Merck. Для градуировки хромато-масс-спектрометра использовали стандартную смесь, содержащую 16 полиаренов, производства фирмы Supelco (кат. № 4-9156) с концентрацией каждого компонента 2000 мкг/мл, растворенных в смеси ацетон/бензол (v/v 1:1), из которой были приготовлены калибровочные смеси с концентрациями каждого компонента 0,1, 1,0, 10,0, 100,0 и 500 нг/мл. Интервал определяемых концентраций ПАУ составляет от 0,1 до 500 мкг/кг. В качестве внутреннего стандарта использовали дейтерированый пирен (pyrene-d_{10}) производства Cambridge Isotope Laboratories (Andover, MA, USA).

Пробы донных отложений высушивали до воздушно-сухого состояния с помощью лиофильной сушки в аппарате CHRIST ALPHA 1-4. Донные отложения массой 4 г перемешивали с элементной медью и добавляли раствор внутреннего стандарта, после чего проводили экстракцию ПАУ в аппарате Сокслета органическими растворителями и их смесями. Полученный экстракт упаривали на роторном испарителе до 5 мл, затем до 1 мл под током азота. ПАУ в донных отложениях, как правило, находятся в относительно низких концентрациях по сравнению с алифатическими углеводородами, содержание которых на 2–3 порядка выше. Поэтому упаренный экстракт подвергали фракционированию на колонке, последовательно заполненной силикагелем, оксидом алюминия и сульфатом натрия. Первую фракцию элюировали 20 мл гексана. В ней преимущественно содержатся алифатические углеводороды. Вторую фракцию, в которой содержатся ПАУ, элюировали 30 мл смеси гексан-дихлорметан (v/v 9:1). Упаривали под слабым током азота до 1 мл и подвергали качественному и количественному анализу на хромато-масс-спектрометре. Условия хромато-масс-спектрометрического анализа приведены в табл. 2.

Таблица 2. Условия хромато-масс-спектрометрического анализа 16 приоритетных ПАУ

Капиллярная колонка	HP-5MS (30 м·0,25 мм·0,25 мкм)
Инжектор	ПТИ
Режим работы инжектора	С отгонкой растворителя
Объем вводимой пробы	10 мкл
Температурная программа инжектора	
Начальная температура	40 °С
Выдержка	0,5 мин
Скорость нагрева	700 °С/мин
Вторая температура	350 °С
Выдержка	2 мин
Конечная температура	300 °С
Время отгонки растворителя	0,5 мин
Скорость вентилирования	100 мл/мин
Температурная программа термостата	
Начальная температура	40 °С
Выдержка	4 мин
Скорость нагрева	20 °С/мин
Вторая температура	120 °С
Выдержка	1 мин
Скорость нагрева	7 °С/мин
Конечная температура	280 °С
Выдержка	20 мин
Условия работы масс-селективного детектора	
Температура интерфейса	285 °С
Температура источника ионов	230 °С
Тип ионизации	ЭУ, 70 эВ
Метод сбора данных	СИМ

© Цымбалюк К.К., Деньга Ю.М., Антонович В.П.

Использование инжектора с программируемой температурой ввода (ПТВ) позволяет снизить пределы обнаружения определяемых ПАУ и, соответственно, уменьшить навески анализируемых донных отложений и объем Сокслет-экстрактора (объем растворителей). В предварительных опытах было установлено, что такие изменения не ухудшают метрологические характеристики методики (относительные стандартные отклонения не превышали 30–35%).

Идентификацию ПАУ проводили по временам удерживания и характеристическим ионам определяемых соединений (табл. 3). В режиме селективной регистрации ионов (СИМ) для каждого соединения использовали 3 иона: ион для обсчета и 2 дополнительных иона. Дополнительные ионы служат для повышения надежности идентификации пика.

Таблица 3. Характеристические ионы ПАУ

Соединение	Ион для обсчета, m/z	Дополнительные ионы, m/z
Нафталин	128	127; 129
Аценафтилен	152	153; 151
Фценафтен	154	153; 152
Флуорен	166	165; 167
Фенантрен	178	176; 179
Антрацен	178	89; 179
Флуорантен	202	203; 101
Пирен	202	203; 101
Бенз(a)антрацен	228	229; 114
Хризен	228	229; 114
Бенз(b)флуорантен	252	253; 126
Бенз(k)флуорантен	252	253; 125
Бенз(a)пирен	252	253; 126
Индено(1,2,3-cd)пирен	276	138; 227
Дибенз(a,h)антрацен	278	139; 279
Бензо(g,h,i)перилен	276	138; 277

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сокслет-экстракция широко и успешно применяется для извлечения ПАУ, полихлорированных бифенилов, хлорорганических пестицидов . Полнота извлечения аналитов из различных матриц (объектов анализа) в аппарате Сокслета зависит от природы используемого растворителя и времени экстракции. Эти параметры, рекомендуемые нормативно-аналитической документацией [10, 11], установлены, как правило, эмпирически без учета гидрофобно-гидрофильного взаимодействия аналитов в анализируемых пробах и растворителей.

Для экстракции ПАУ испытаны 7 различных систем, состоящих из индивидуальных растворителей и их смесей: дихлорметан (ДХМ), гексан, гептан, толуол, гексан:ацетон (3:1), ДХМ:метанол (3:1), гексан:этилацетат (1:1). На рис. 1 показаны степени извлечения 5 полиаренов, достигнутые за 4 ч экстракции из стандартного образца состава черноморских донных отложений BS-1/ОС с аттестованным содержанием ПАУ.

Из приведенных данных следует, что за 4 ч экстракции не удается достичь количественного извлечения ПАУ. Лучшие результаты на уровне (60–70 %) в случае “легких” ПАУ дают ДХМ, гексан, толуол, а также смеси гексан:ацетон (3:1) и ДХМ:метанол (3:1). В случае “тяжелых” ПАУ наибольшие степени извлечения достигаются при использовании смесей гексан:ацетон (3:1) и ДХМ:метанол (3:1). Гептан показывает неудовлетворительные степени извлечения как “легких”, так и “тяжелых” ПАУ (от 32 до 48 %). Смесь гексан:этилацетат (1:1) показывает высокие степени извлечения для фенантрена и флуорантена, однако в случае бенз(*g,h,i*)перилена составляет < 40 %. Из-за сложностей работы с толуолом (из-за его высокой температуры кипения) этот растворитель в дальнейшей работе не использовали.

В дальнейшем для экстракции полиаренов из донных отложений использовали ДХМ, гексан, гексан:ацетон (3:1) и ДХМ:метанол (3:1).

На рис. 2 показаны степени извлечения 16 полиаренов из BS-1/ОС за 4, 6, 8 ч экстракции.

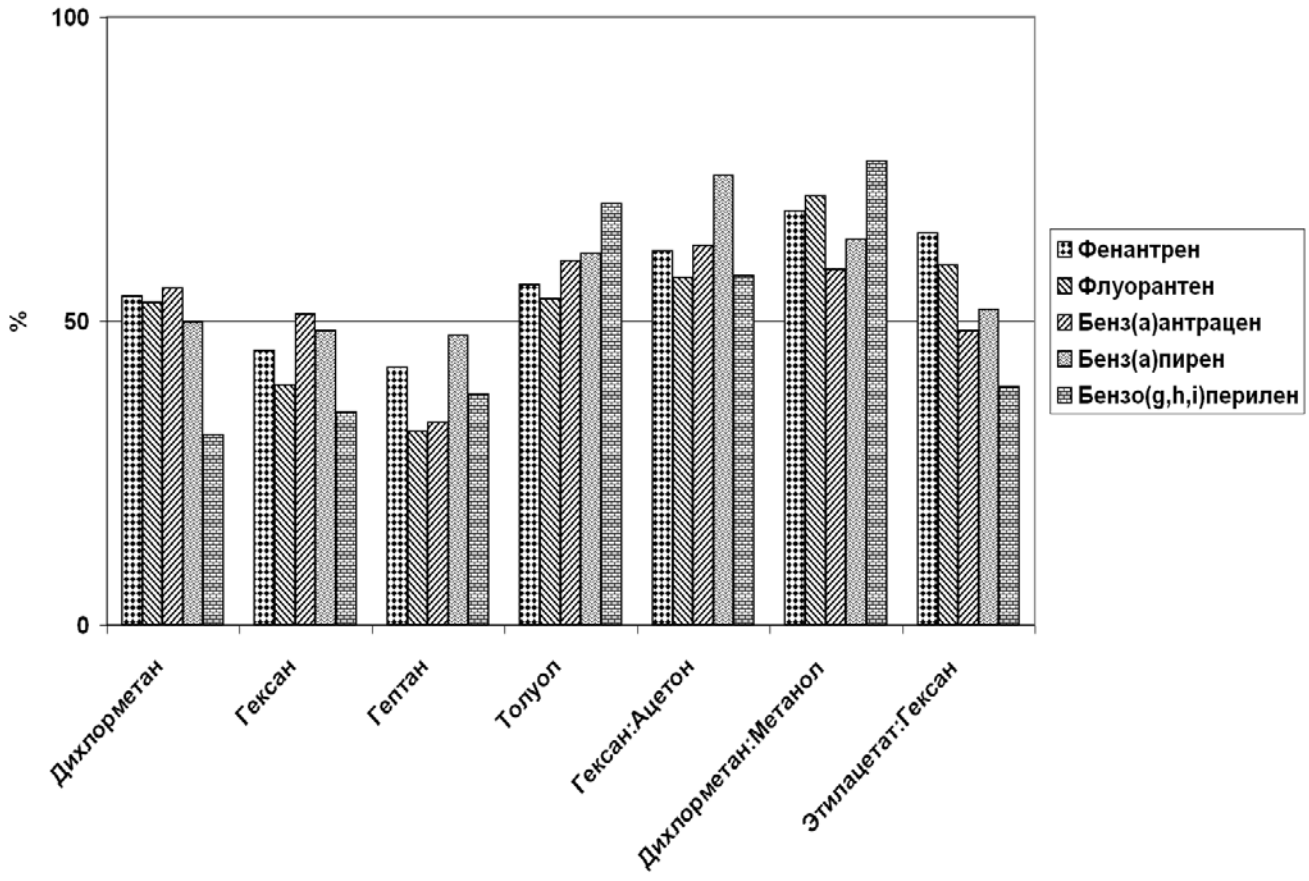

Рис.1. Эффективность извлечения ПАУ различными растворителями и их смесями за 4 ч.

Как видно из рис. 2, наивысшие степени извлечения (90–104 %) за 8 ч получены при использовании смесей гексан:ацетон (3:1) и ДХМ:метанол (3:1). Однако при экстракции смесью гексан:ацетон (3:1) извлечение высших ПАУ хуже, чем в случае смеси ДХМ:метанол (3:1). Низкие степени извлечения, полученные при экстракции гексаном и дихлорметаном, по сравнению со смесями с полярными растворителями, по всей видимости обусловлены тем, что гидрофобные растворители хуже проникают в поры частиц донных отложений, где сорбированы ПАУ (рис. 3), а добавка полярных гидрофильных растворителей облегчает этот доступ. Следует отметить тот факт, что степени извлечения бензо(*g,h,i*)перилена во всех случаях ниже степеней извлечения более “легких” ПАУ. Одним из объяснений этого факта может быть мешающие влияние коэкстрагируемых соединений, время выхода которых на масс-хроматограммах совпадает с временем выхода бензо(*g,h,i)*перилена. Другим объяснением низких степеней извлечения для высших ПАУ может быть “сила сорбции” в матрице. Для оценки сродства ПАУ к матрице в литературе применяют показатель Log K_{ow} (табл. 1.) [12]. Чем больше значение Log K_{ow}, тем выше “сила сорбции” соединения.

Обычно Сокслет-экстракцию ПАУ из донных отложений проводят в течение 24 ч [10–13].

Полученные нами результаты позволяют сделать вывод о возможности сокращения времени экстракции до 8 ч при использовании смесей гексан:ацетон (3:1) и ДХМ:метанол (3:1).

Проблемой при определении СОЗ в черноморских донных отложениях является очистка экстракта от серы и серосодержащих соединений. В мировой практике для этого применяют 3 основных способа обработки экстрактов:

– металлической ртутью,
– активированной элементной медью,
– пирогенной медью.

Наиболее эффективна очистка с помощью ртути, однако ее токсичность препятствует широкому применению этого способа. Очистка элементной медью требует трудоемкой процедуры ее активации и длительного контакта с экстрактом (24 ч). Очистка с помощью пирогенной меди по эффективности приближается к очистке с помощью металлической ртути и занимает не более 15 мин.

Однако стадия приготовления пирогенной меди весьма трудоемкая, а срок ее хранения не более 2 мес.

© Цымбалюк К.К., Деньга Ю.М., Антонович В.П.

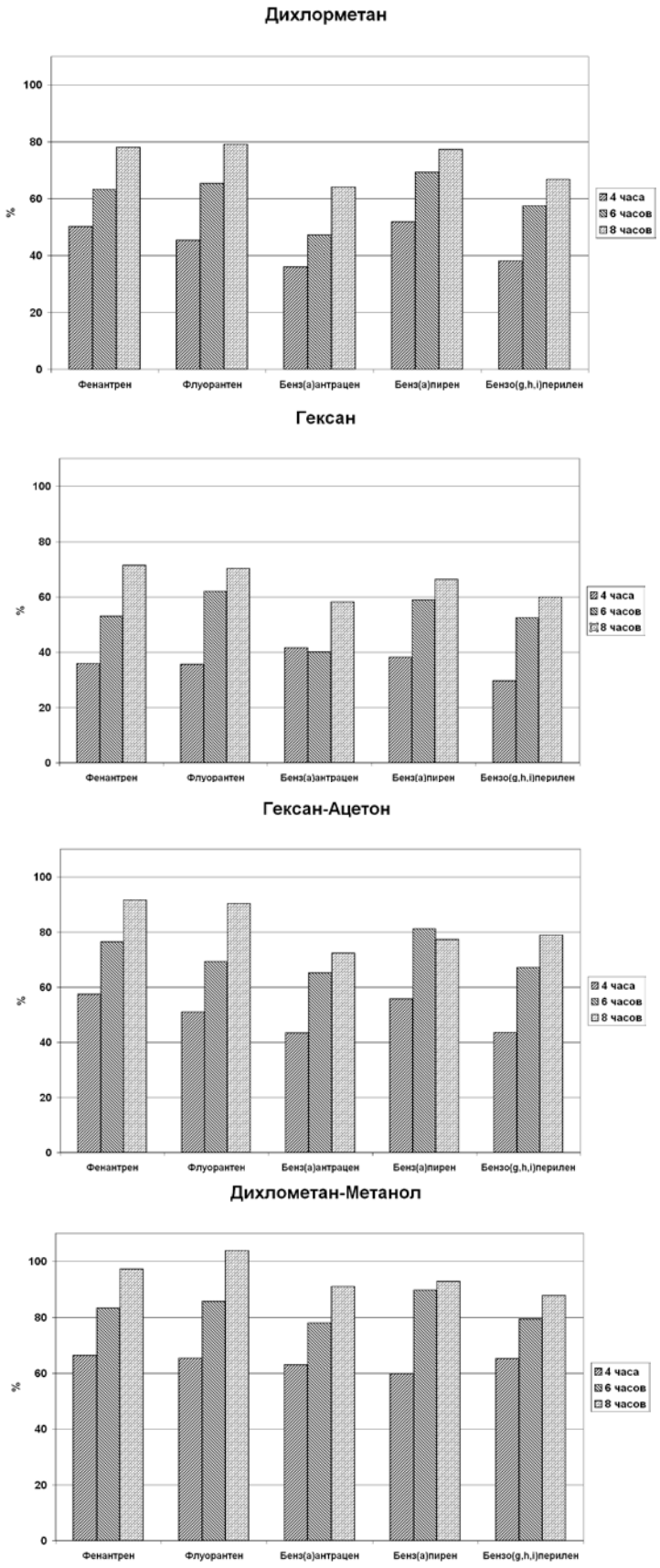

Рис. 2. Степени извлечения ПАУ из донных отложений за 4, 6, 8 ч растворителями и их смесями.

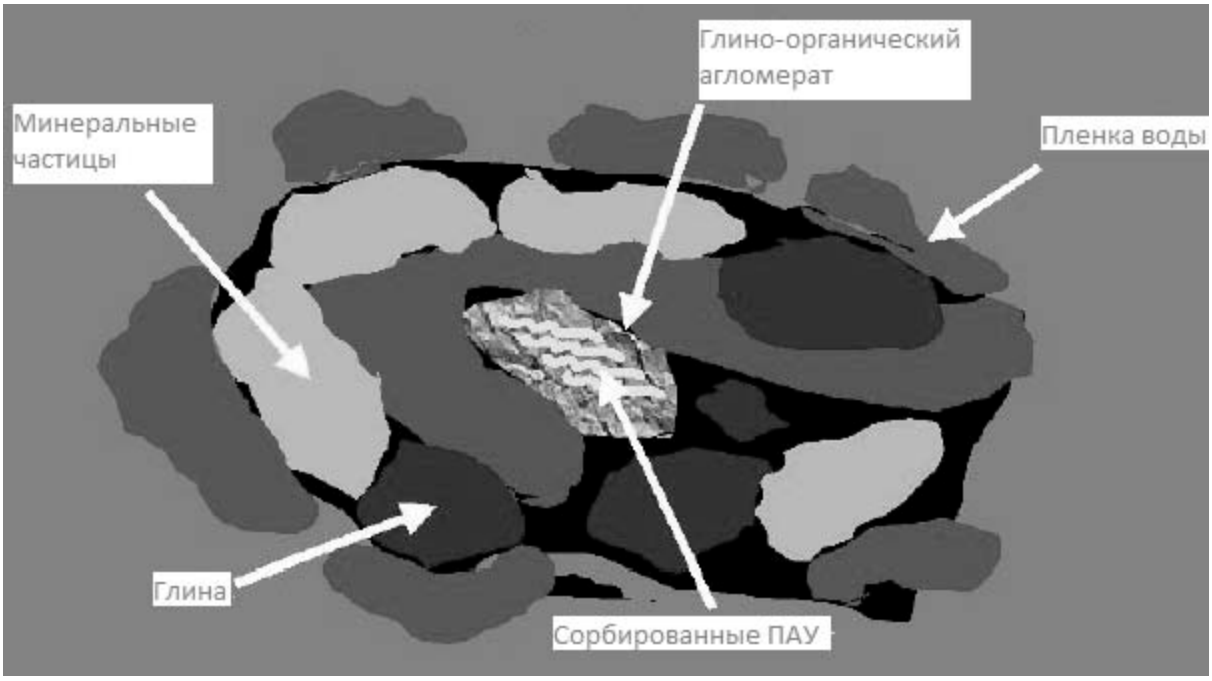

Рис. 3. Структура донных отложений

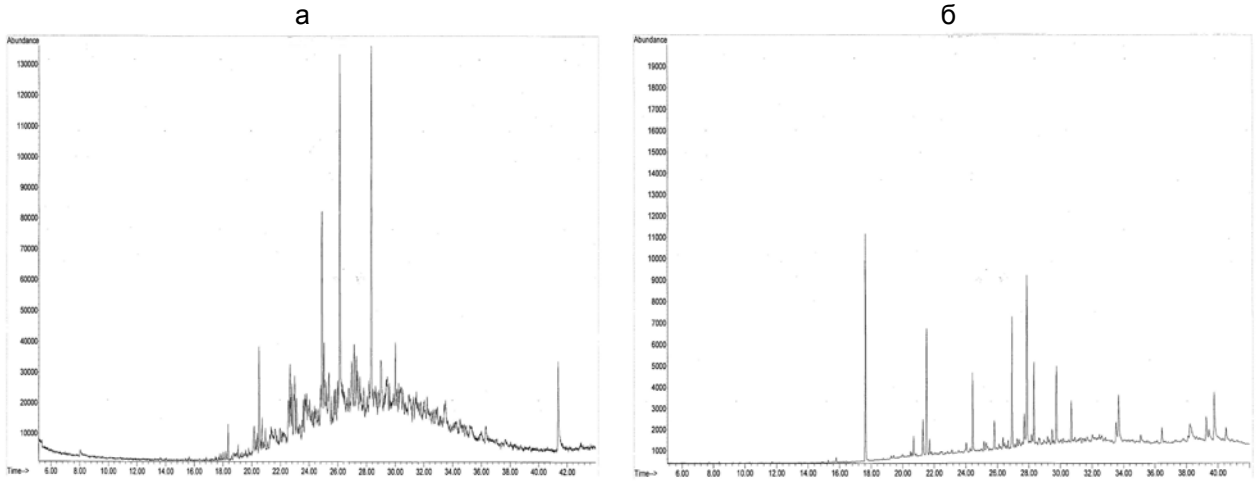

Рис. 4. Масс-хроматограммы экстракта донных отложений без очистки (а) и с очисткой (б) от серы и серосодержащих соединений

В работе совмещены стадия экстракции ПАУ и стадия очистки экстракта от серы и серосодержащих соединений путем добавления неактивированной элементной меди к донным отложениям перед экстракцией в соотношении 1:2.

На рис.4 представлены масс-хроматограммы экстракта донных отложений без очистки (а) и с очисткой (б) от серы и серосодержащих соединений.

Как видно из рис. 4, добавление элементной меди к донным отложениям перед экстракцией позволяет эффективно очистить экстракт от серы и серосодержащих соединений. Последовательность операций оптимизированой в данном исследовании методики определения ПАУ в черноморских донных отложениях представлена на рис. 5.

Для контроля правильности результатов, получаемых по разработанной методике определения полиаренов в морских седиментах, которая включает оптимизированную процедуру пробоподготовки, анализировали международный стандартный образец состава морских донных отложений SRM IAEA – 383 с аттестованным содержанием ПАУ.

Соответствующие данные приведены в табл. 4. Высокие значения S_r для низших ПАУ можно объяснить высокой летучестью этих соединений, особенно нафталина (табл. 1).

© Цымбалюк К.К., Деньга Ю.М., Антонович В.П.

Рис. 5. Схема определения ПАУ в черноморских донных отложениях

Таблица 4. Результаты определения 16 ПАУ в SRM IAEA – 383

Соединение	Аттестованное значение, мкг/кг	Доверительный интервал, мкг/кг	Полученное значение, мкг/кг	S_r,%
Нафталин	96	52–110	87	40
Аценафтилен	47	31–59	51	34
Аценафтен	16	13–21	19	41
Флуорен	27	24–34	31	42
Фенантрен	160	140–190	144	17
Антрацен	30	25–34	34	16
Флуорантен	290	260–350	323	8
Пирен	280	210–350	300	8
Бенз(*a*)антрацен	105	83–130	120	16
Хризен	170	120–220	187	9
Бенз(*b*)флуорантен	150	96–190	173	16
Бенз(*k*)флуорантен	73	48–76	59	24
Бенз(*a*)пирен	120	77–140	112	23
Индено(1,2,3-*cd*)пирен	150	130–160	134	17
Дибенз(*a,h*)антрацен	20	18–41	27	25
Бензо(*g,h,i)*перилен	90	69–230	204	14

Полученные данные укладываются в соответствующие доверительные интервалы. Это указывает на возможность применения предложенной в этой работе методики определения приоритетных ПАУ в черноморских донных отложениях.

ВЫВОДЫ

Использование в качестве экстрагента полиаренов вместо индивидуальных растворителей смеси дихлорметан:метанол (3:1) позволило в 3 раза сократить время, необходимое для 80–95 %-ного извлечения суммы 16 приоритетных ПАУ. Исключение отдельной 24 ч стадии очистки экстрактов от серы и серосодержащих соединений и ее совмещение с ускоренным процессом экстракции аналитов существенно повышает экспрессность всей процедуры пробоподготовки. Необходимо отметить, что сугубо инструментальные улучшения чувствительности конечной стадии анализа (за счет ввода большого объема пробы, ПТИ инжекции, режима СИМ) дает возможность уменьшить навески анализируемых седиментов с 10–20 до 4 г, сократить объем расходуемых растворителей с 250–400 мл до 100 мл.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wenzl T., Simon R., Kleiner J., Anklam E. Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons in food and the environment needed for new food legislation in the European Union // Trend. Analyt. Chem.- 2006.- V. 25.- № 7.- P. 716-725.

2. Jacob J. The significance of polycyclic aromatic hydrocarbons as environmental carcinogens // Pure Appl. Chem.- 1996.- V. 68.- № 2. -P. 301-308.

3. Harrion R.M., Smith D.J.T., Luhana L. Source apportionment of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons collected from an Urban Location in Birminham, U.K.// Environ. Sci. Technol.- 1996.- V. 30.- № 3.- P. 825-832

4. Филатов В.А., Худолей В.В. Химические канцерогены в окружающей среде и их экологическое значение // Журн. Эколог. Химии.- 1993.- Т. 2.- № 4.- С. 313-318.

5. Collins P.J., Kotterman M.J.J., Field J.A., Dobson A.D.W. Ozidation of Anthracene and Benz(a)pyrene by laccases from Trametes virsicolor // Appl. Environ. Microbiol.- 1996.- V. 62.- № 12.- P. 4563-4567.

6. Filipkowska A., Lubecki L., Kowalewska G. Polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in different matrices of the marine enviroment // Anal. Chem. Acta. -2005. - V. 547.- P. 243–254.

7. Soclo H.H., Carrigues Ph., Ewald M. Origin of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Coast Marine Sediments: Case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine(France)// Mar. Pollut. Bull. 2000. - V. 40.- №5.- P. 387–396.

8. Gimeno R.A., Altelaar A.F.M., Marce R.M., Borrul F. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic sulfur heterocycles by high-performance liquid chromatography with fluorescence and atmospheric pressure chemical ionization mass-spectrometric detection in seawater and sediment samples // J. Chromatogr. A.- 2002.- V. 958.- №1-2. - P. 141–148.

9. U.S. EPA Method 610 40 CFR part 136, App. A - National environmental methods, 2004.

10. U.S. EPA Method 3540C, 1996.

11. ДСТУ ISO 18287:2008 Якість ґрунту. Визначення поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПАВ). Газово-хроматографічний метод із мас-спектрометричним детектуванням.

12. Itoh N., Numata M., Aoyagi Y., Yarita T. Comparison of low-level polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment revealed by Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction, and pressurized liquid extraction // Anal. Chim. Acta.- 2008.- V. 612.- P. 44–52.

13. Shu Y. Y., Lao R. C., Chiu C. H., Turle R. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment reference materials by microwave-assisted extraction // Chemosphere.- 2000.- V. 41.- № 11.- P. 1709–1716.

14. ГОСТ Р ИСО 11338-2-2008.

15. Sánchez-Avila J., Bonet J., Velasco G., Lacorte S. Determination and occurrence of phthalates, alkylphenols, bisphenol A, PBDEs, PCBs and PAHs in an industrial sewage grid discharging to a Municipal Wastewater Treatment Plant // Science of The Total Environment.- 2009.- V. 407.- I. 13.- P. 4157-4167.

© Цымбалюк К.К., Деньга Ю.М., Антонович В.П.