

О.А.Миронов

Институт биологии южных морей НАН Украины, г.Севастополь

МЕТОДЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ МОНИТОРИНГА НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ В ПРИБРЕЖНОЙ АКВАТОРИИ Г.СЕВАСТОПОЛЯ

Проанализированы основные группы методов определения нефтяных углеводородов в морской среде (физические, химические, биологические). Выбран оптимальный методический подход изучения содержания нефтяных углеводородов в прибрежной акватории региона Севастополя. Получены новые количественные данные по биопередаче нефтяных углеводородов массовыми представителями прибрежных биоценозов, что позволяет судить о роли морской биоты в пространственном изменении потоков нефтяного загрязнения в прибрежной акватории. Результаты исследований показали, что основной вклад соединений, обнаруженных на ИК спектрах в прибрежной акватории региона Севастополя приходится на углеводороды алифатического ряда.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *нефтяное загрязнение, прибрежная акватория, ИК-спектроскопия, биоперенос.*

Нефть и нефтепродукты являются одним из основных компонентов загрязнения морской среды, находясь в ней в растворенном, пленочном и эмульгированном состоянии. Величина предельно допустимой концентрации (ПДК) нефтяных углеводородов в морской воде составляет 0,05 мг/л, что свидетельствует об их высокой токсичности. Негативное влияние нефти особенно проявляется в прибрежной зоне, имеющей важное хозяйственное и рекреационное значение, например побережье Крыма. Основным источником нефтяного загрязнения акватории этого региона является повседневная деятельность человека.

Мониторинговые исследования в системе Севастопольских бухт и прилегающих к ним акваториям открытого моря проводятся на протяжении около 40 лет [1]. Однако в районе узкой прибрежной зоны такие работы начались лишь в последние годы [2]. При этом особое значение приобретает исследование в полосе с глубинами до 1,5 – 2 м, включающие как естественные пляжи, так и гидротехнические сооружения. В этой узкой прибрежной полосе происходит концентрация загрязняющих веществ, поступающих как со стороны берега, так и со стороны моря. В то же время здесь наблюдается наиболее интенсивный контакт людей с морем.

В этой связи целью настоящей работы был выбор оптимальной группы методов и объектов морской среды для проведения мониторинга нефтяного загрязнения в прибрежной акватории Севастополя (рис.1).

Район исследования включал каменистый и песчано-илистые пляжи, а также подводные части гидротехнических сооружений. Все станции различаются между собой по открытости расположения, а также имеют разные показатели гидродинамической активности и гранулометрического состава субстратов. Так, ст.1 находилась в акватории Приморского бульвара около памятника Затопленным кораблям, достаточно близко от выхода из Севастопольской бухты и имеет более интенсивный водообмен, в то время как



Р и с . 1 . Схема расположения станций отбора проб: ст.1 – Приморский бульвар, ст.2 – бухта Казачья, ст.3 – парк Победы.

ст.2, расположенная на песчаном пляже в районе б. Казачьей располагается в глубине бухты и волновая активность там минимальна. Ст.3 представляет собой участок пологого каменистого дна с выходами скальных пород в районе открытого моря.

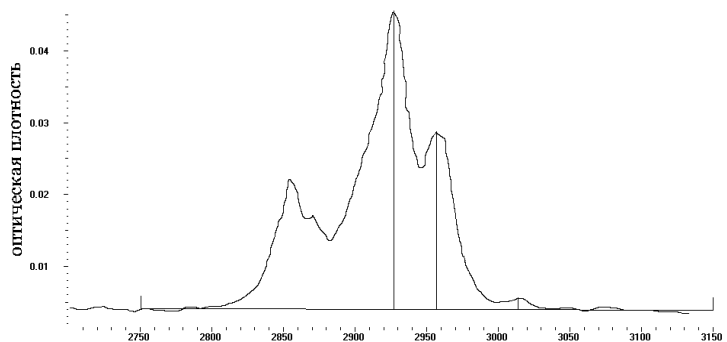
Нефть представляет собой сложнейшее природное химическое соединение, в составе которого одних только углеводо-

родов насчитывается свыше двух тысяч. Из-за сложности химического строения нефти единого химического метода ее индикации в море нет. В зависимости от цели, задач и возможностей применяются те или иные методики. Часто они используются в различных комбинациях и последовательности, что зависит, в основном, от вида анализируемой пробы: морская вода, донные осадки и прибрежные наносы, морские гидробионты. Однако для экологической оценки и прогноза судьбы нефти в прибрежной зоне моря анализу подвергаются все перечисленные выше объекты.

С целью получения сравнимых результатов из химических методов был выбран метод инфракрасной спектроскопии. Метод инфракрасной спектрофотометрии для оценки нефтяного загрязнения основан на измерении интенсивности поглощения, обусловленного *C-H*-связями метиленовых ($-CH_2$) и метильных ($-CH_3$) групп в ближней инфракрасной области спектра ($2700 - 3100 \text{ см}^{-1}$). На этот диапазон длин волн приходится свыше 90 % углеводородов нефти, что представлено на рис.2.

ИК спектры отличаются большой индивидуальностью, что и определяет их ценность при идентификации и изучении строения соединений. Приводимые ниже результаты исследований объектов морской среды показали, что основной вклад в оценке нефтяного загрязнения приходится на углеводороды алифатического ряда.

Перед получением ИК-спектров пробы подвергаются предварительной обработке. Пробу воды в количестве 2 л экстрагировали четыреххлористым углеродом, экстракт пропускали через стеклянную колонку с окисью алю-



Р и с . 2 . Типичный ИК-спектр нефтяных углеводородов в период наблюдения.

миния и прописывали на ИК-спектрофотометре Фурье ФСМ 1201. Гидробионты выбирались из талломов водорослей, высушивались, измельчались и помещались в центрифужные пробирки и заливались смесью хлороформ-этанола в соотношении 1 : 2. Затем пробы центрифугировали до получения бесцветного экстракта. Экстракт выпаривали под вентилятором при комнатной температуре. Выпаренный остаток растворяли в четыреххлористом углероде, после чего он анализировался на том же ИК-спектрофотометре, что и экстракт из морской воды.

Четкие и характерные пики поглощения в ИК области спектра ($2700 - 3100 \text{ см}^{-1}$) характеризуют углеводород- и водородосодержащие соединения, которым соответствуют различные формы *C-H* связей. Если главное поглощение ниже 3000 см^{-1} , то, вероятно, присутствуют алифатические соединения. Если главные пики поглощения наблюдаются приблизительно на длинах волн 2935 и 2860 см^{-1} , а также есть пики поглощения в 1470 и 720 см^{-1} , это означает наличие длинной линейной алифатической цепи, что продемонстрировано на рис.2.

Известно, что основную роль в трансформации нефтяного загрязнения играют морские организмы. Проходя через гидробионты, нефтяные углеводороды накапливаются в их тканях, а также выводятся из организма с продуктами жизнедеятельности. Определяя углеводороды нефти в цепочке: морская вода – субстрат – организмы – продукты их жизнедеятельности, можно определить потоки нефтяного загрязнения, что даст материалы для оценки самоочищения моря от нефти.

Исходя из этого, мы попытались проследить в конкретной морской акватории со слабым нефтяным загрязнением уровни нефтяных углеводородов в различных морских организмах, а также передачу нефтяных углеводородов по пищевой цепи.

Основное развитие морских организмов идет на твердых субстратах естественного и антропогенного происхождения. При этом элементы дна, например валуны или выходы скальных пород, а также подводные элементы гидротехнических сооружений заселяются морскими организмами, которые в свою очередь являются субстратом для поселения других гидробионтов. В этом отношении представляют интерес водоросли-макрофиты, в массе заселяющие прибрежные воды Черного моря. При этом в зависимости от мест обитания они могут достигать $50 - 70 \text{ см}$ в длину (при произрастании на дне). На вертикальных стенках гидротехнических сооружений на границе море-атмосфера водоросли не превышают нескольких сантиметров и часто бывают травмированы [3]. Из прибрежных зарослей макрофитов значительный интерес представляет бурая водоросль *Cystoseira barbata*. Среди населяющих цистозиру моллюсков по численности преобладает *Rissoa splendida*. Количество этих моллюсков может достигать, особенно к осени, до полутора – двух тысяч особей на 1 кг живой цистозеры. Такие высокие значения численности организмов в первую очередь связаны со степенью развития диатомового оброста цистозеры, который является основной пищей риссой [4].

Сезонная динамика нефтяных углеводородов в перифитоне, моллюсках и их фекалиях представлена на рис.3.

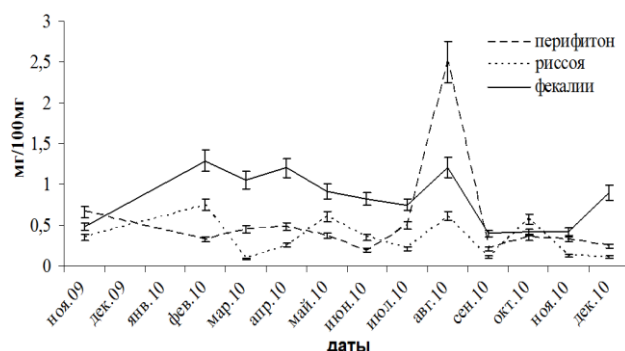


Рис. 3. Сезонная динамика нефтяных углеводородов в перифитоне, моллюсках и их фекалиях.

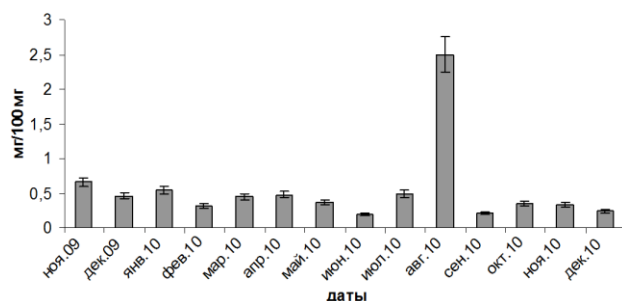


Рис. 4. Динамика содержания нефтяных углеводородов в перифитоне (осредненные данные по всем станциям).

их концентрации в летние месяцы, когда антропогенная нагрузка на прибрежные акватории возрастает. В перифитоне максимум содержания нефтяных углеводородов также был зафиксирован в летние месяцы, что представлено на рис.4.

Так, в августе 2010 г. обнаружен значительный пик содержания нефтяных углеводородов в перифитоне, что может быть связано с двукратным превышением их ПДК в морской воде в июле. Связь между содержанием нефтяных углеводородов в морской воде и перифитоном была установлена нами при проведении исследований в районе Артбухты [3], где их максимальные значения наблюдались в кутовой части бухты, что было зафиксировано на поверхности деформированных талломов макрофитов.

Учитывая литературные данные о количестве пищи, потребляемом моллюсками *Rissoa splendida* [5] и наши данные по содержанию нефтяных углеводородов в перифитоне, было рассчитано количество нефтяных углеводородов, проходящих через один организм моллюска, которое составляло $1,28 \cdot 10^{-6}$ мг/сут. Таким образом, величина потока нефтяных углеводородов через моллюски *Rissoa splendida* будет зависеть от ее численности в данной акватории. Например, в наших пробах на глубинах до 1 м, мы обнаруживали сотни экземпляров этого моллюска. Если взять среднюю величину 300 экз. на 1 кг водорослей, то через моллюсков *Rissoa splendida* пройдет $3,84 \cdot 10^{-4}$ мг/сут. Зная биомассу цистозеры и численность моллюсков этого вида, можно рассчитать вклад последних в перенос нефтяных углеводоро-

Было установлено, что количество нефтяных углеводородов в фекалиях моллюска *Rissoa splendida* в среднем составляет около 93 % от количества, зафиксированного в микроперифитоне, используемом моллюсками в качестве объекта питания.

Это означает, что *Rissoa*, в отличие от двустворчатых моллюсков-фильтраторов, практически не накапливает в себе нефтяные углеводороды, а лишь является звеном, связывающим их в виде фекалий, которые затем подвергаются деятельности микроорганизмов.

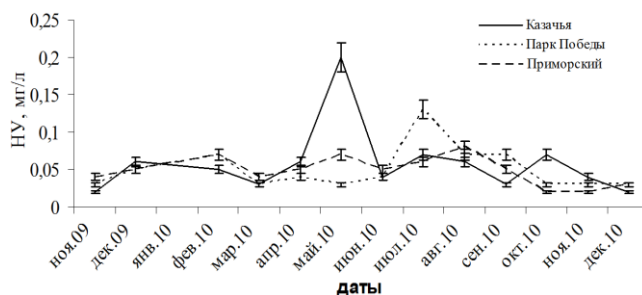
При анализе содержания нефтяных углеводородов в морской воде обнаружено повышение

дов в любой заданной акватории. При этом следует помнить, что биоперенос нефтяных углеводородов происходит на фоне геофизических и динамических процессов в море [6].

Большие перспективы в плане оценки нефтяного загрязнения открывает биоиндикация, ведущая роль в которой принадлежит микроорганизмам, способным использовать углеводороды в качестве единственного источника углерода и энергии. С помощью этого метода проводился мониторинг нефтяного загрязнения как в различных районах Мирового океана, так в шельфовой и прибрежной зоне моря [7].

С помощью микробиологических методов можно не только проводить индикацию загрязняющих веществ, в частности углеводородов нефти, но и прогнозировать их судьбу в море. В ряде случаев биологический метод может быть чувствительнее, чем химический, поскольку даже 1 бактериальная клетка с диаметром 0,2 мкм, что меньше самой тонкой нефтяной эмульсии, встречающейся в море, может свидетельствовать о наличии нефти.

В настоящей работе численность микроорганизмов определялась методом предельных разведений с последующей статистической обработкой результатов по Мак-Креди [8]. Среднегодовая численность нефтеокисляющих бактерий была примерно одинакова во всех трех точках и колебалась в пределах 23 – 28 кл/мл.



Р и с . 5 . Динамика содержания нефтяных углеводородов в морской воде на трех станциях отбора проб.

Полученные величины свидетельствуют о слабой концентрации нефтяных углеводородов в изучаемом районе и наличии микроорганизмов, способных трансформировать нефть и нефтепродукты. Пределы колебания численности данной группы микроорганизмов от 1 до 95 кл/мл указывают на неравномерность и периодичность нефтяного загрязнения моря в данном районе. Это согласуется с данными химического анализа морской воды, представленными на рис.5.

Как видно из данного рисунка, значения содержания нефтяных углеводородов в морской воде за весь период наблюдения в среднем не превышали ПДК 0,05 мг/л. Превышение было отмечено в основном в летние месяцы, когда антропогенная нагрузка на прибрежные акватории возрастает.

Следует отметить, что наряду с бактериями в биоиндикации и мониторинге нефтяного загрязнения играют роль и другие морские организмы. Часто их используют как концентраторов нефтяных углеводородов, по которым судят о нефтяном загрязнении морских акваторий. В то же время в гидробионтах можно определять углеводороды опасные для здоровья человека [9].

Выводы. Выбран оптимальный методический подход изучения содержания нефтяных углеводородов в прибрежной акватории региона Севастополя. Получены новые количественные данные по биопередаче нефтяных

углеводородов массовыми представителями прибрежных биоценозов данного региона. Была выявлена роль морской биоты в пространственном изменении потоков нефтяного загрязнения в прибрежной акватории. Основной вклад соединений, обнаруженных на ИК спектрах в прибрежной акватории региона Севастополя приходится на углеводороды алифатического ряда.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Миронов О.Г., Кирюхина Л.Н., Алемов С.В.* Санитарно-биологические аспекты экологии Севастопольских бухт в XX веке.— Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003.— 185 с.
2. *Санитарно-биологические* исследования в прибрежной акватории региона Севастополя / Под общей ред. О.Г.Миронова.— Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2009.— 192 с.
3. *Миронов О.А.* Нефтяные углеводороды на поверхности водорослей макрофитов гидротехнических сооружений // *Экология моря*.— 2007.— № 74.— С.56-58.
4. *Маккавеева Е.Б.* Беспозвоночные зарослей макрофитов Черного моря.— Киев: Наукова думка, 1979.— 228 с.
5. *Чухчин В.Д.* Экология брюхоногих моллюсков Чёрного моря.— Киев: Наукова думка, 1984.— 176 с.
6. *Иванов В.А., Черкесов Л.В., Шульга Т.Я.* Динамические процессы и их влияние на распределение и трансформацию загрязняющих веществ в ограниченных морских бассейнах // Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2010.— 178 с.
7. *Миронов О.Г.* Биологические проблемы нефтяного загрязнения морей // *Гидробиол. журнал*.— 2000.— 36, № 1.— С.82-96.
8. *Практикум по микробиологии* / Под ред. А.И.Нетрусова.— М.: Изд. центр «Академия», 2005.— 608 с.
9. *Shchekaturina T.L., Khesina A.L., Mironov O.G., Krivosheeva L.G.* Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in mussels from the Black sea // *Marine pollution bulletin*.— 1995.— v.30, № 1.— P.38-40.

Материал поступил в редакцию 11.11.2011 г.

АНОТАЦІЯ. Проаналізовані основні групи методів визначення нафтових вуглеводнів в морському середовищі (фізичні, хімічні, біологічні). Вибраний оптимальний методичний підхід вивчення вмісту нафтових вуглеводнів в прибережній акваторії регіону Севастополя. Отримані нові кількісні дані по біопередачі нафтових вуглеводнів масовими представниками прибережних біоценозів, що дозволяє судити про роль морської біоти в просторовій зміні потоків нафтового забруднення в прибережній акваторії. Результати досліджень показали, що основний вклад з'єднань, виявлених на ІЧ спектрах в прибережній акваторії регіону Севастополя доводиться на вуглеводнів аліфатичного ряду.

ABSTRACT. The main methods for the determination of petroleum hydrocarbons in the marine environment (physical, chemical, biological) have been analyzed. The optimal methodological approach exploring the contents of petroleum hydrocarbons in the coastal waters of the Sevastopol region has been selected. New quantitative data on the biotransference of petroleum hydrocarbons by the mass representatives of coastal biocenoses has been obtained. This gives an indication of the role of marine biota in the spatial variation of flow of oil pollution in coastal waters. The results

showed that the main contribution of compounds detected in the IR spectra in coastal waters of the Sevastopol region falls on aliphatic hydrocarbons.