

## Определение скоростей биodeградации нефтяных углеводородов в воде литорали Кольского залива

И.В. Перетрухина<sup>1</sup>, В.В. Ильинский<sup>2</sup>, М.Ю. Литвинова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Биологический факультет МГТУ, кафедра микробиологии

<sup>2</sup> Биологический факультет МГУ им. Ломоносова, кафедра гидробиологии

**Аннотация.** В работе исследуется вклад микроорганизмов в процессы естественного очищения северных морей от нефтяных углеводородов. Впервые получены количественные данные о сезонной динамике потенциальной УВ-окисляющей активности гетеротрофного бактериопланктона литорали Кольского залива в зарослях макрофитов и вдали от них. Результаты такого анализа могут быть применены для расчета максимально допустимых нагрузок на данную водную экосистему и для учета вклада микроорганизмов в процессы естественного очищения литорали северных морей от нефтяного загрязнения.

**Abstract.** The paper considers microorganism contribution to the process of northern sea purification from petroleum hydrocarbons. Some quantitative data on seasonal dynamics of potential hydrocarbon oxidizing activity of bacterial plankton of the Kola Bay littoral in macrovegetation tangle and out of them have been obtained for the first time. These results can be used for calculation of permissible capacity on to a certain aquatic ecosystem and for registration of microorganism contribution to the process of natural purification of the northern sea littoral from petroleum contamination.

### 1. Введение

Проблема нефтяного загрязнения Кольского залива на сегодняшний день является одной из актуальных экологических проблем региона. Несмотря на то, что катастрофических разливов нефти в Баренцевом море до настоящего времени не наблюдалось, Кольский залив относится к числу зон с высоким уровнем загрязнения нефтяными углеводородами, концентрация которых в отдельных акваториях залива превышает ПДК в несколько раз.

На всем своем протяжении Кольский залив подвергается усиленному антропогенному воздействию, наиболее заметному в пределах города Мурманска. Качество воды в Кольском заливе определяется, в основном, интенсивностью поступления загрязняющих веществ в экосистему залива. Существует по меньшей мере пять путей поступления поллютантов в морскую среду: поступление с поверхностным стоком, сбросы промышленных и коммунальных предприятий, сбросы отходов с морских судов, атмосферные выпадения, дампинг грунта. Основной путь загрязнения Кольского залива – сбросы промышленных и коммунальных предприятий, а также сбросы отходов с морских судов. Рассматривая Кольский залив как структурную часть морского бассейна, необходимо учитывать и возможность адвекции загрязняющих веществ морскими течениями извне.

Одним из наиболее распространенных видов загрязнения являются нефтяные углеводороды. При нефтяном загрязнении изменяется соотношение видов гетеротрофных микроорганизмов и уменьшается их разнообразие; развиваются бактерии, потребляющие углеводороды, нарушается газо- и теплообмен между атмосферой и океаном; изменяются процессы растворения и выделения CO<sub>2</sub>.

В последние годы объём сточных вод, поступающих в залив, остаётся стабильным. Однако, как показывают исследования, уровень загрязнения воды и донных отложений залива нефтяными углеводородами в последнее десятилетие неизменно возрастал (*Доклад государственного...*, 2000).

Комплексных химических и микробиологических исследований бактериоценозов Кольского залива в последние годы не проводилось, нет данных и об их углеводородокисляющей активности, полученных с применением современных методов и пригодных для практического использования.

На фоне огромного числа литературных источников, констатирующих нефтяное загрязнение моря как таковое, и столь же многочисленных заявлений о возможностях экологической катастрофы данные о скоростях элиминации нефтяных углеводородов в морской среде настолько скудны и настолько противоречивы, что не позволяют сделать сколько-нибудь обоснованный вывод о способности моря к естественному самоочищению от этого вида загрязнения. О реальности экологической катастрофы можно говорить лишь в том случае, если доказано, что скорость поступления нефтяных углеводородов в морскую среду превышает скорость их биodeградации. Отсюда возникает необходимость оценки способности Кольского залива к естественному очищению от нефтяного загрязнения, что и явилось основной целью данной работы.

Естественное очищение моря от нефтяного загрязнения проходит сложным, многофакторным путем, состоящим из одновременно протекающих физических, химических и биологических процессов, включающих испарение, рассеяние, растворение, эмульгирование, агрегирование, сорбирование на взвешьях, химическое и фотохимическое окисление, физическая и биологическая седиментация.

Согласно современным представлениям, в условиях нефтяного загрязнения важнейшим звеном внутренних управляющих механизмов экосистемы становятся микроорганизмы, способные окислять углеводороды нефти и вводить их в естественный круговорот углерода (Коронелли и др., 1994).

Темой настоящей работы явилась оценка роли микроорганизмов в процессах естественного очищения Кольского залива от нефтяного загрязнения.

## 2. Материалы и методы исследования

Для отбора проб в Кольском заливе были выбраны 2 станции. Первая станция располагалась в районе моста, который протягивается от Мурманска на другую сторону залива. Со стороны Мурманска неподалеку от этой станции находится устье р. Кола, несущей загрязнения различного характера с береговых предприятий области, а также коллектор, выносящий канализационные бытовые стоки (рис. 1).

Вторая станция располагалась в районе бухты Белокаменки примерно на середине залива, на противоположенном берегу от промышленного центра – города Мурманска. Она достаточно удалена от густонаселенных пунктов и от центров стоянки крупнейшего в стране атомного флота. Станция 2 находится под определяющим влиянием морских вод, поступающих из Баренцева моря. Для нее характерна значительная соленость (до 35 ‰) и невысокая температура (среднегодовая температура воды 5,8 °С) (Кольский залив..., 1997). Литораль бухты Белокаменки отличается обилием и разнообразием произрастающих здесь макрофитов.

Отбор проб воды для анализа проводили с глубины 50-70 см. Пробы отбирали в течение 3 лет. Гидрохимический анализ был выполнен на станциях Государственной наблюдательной сети в морских прибрежных водах Баренцева моря на территории деятельности ГУ "Мурманское УГМС" (рис. 1).

Учёт численности бактерий проводили с помощью прямого счёта их клеток под микроскопом. Окраску бактерий для прямого счёта проводили водным раствором флуорохрома акридинового оранжевого. Подсчёт клеток осуществляли с помощью люминесцентного микроскопа МИКМЕД-1.

Оценку углеводородокисляющей активности гетеротрофных бактерий проводили радиоуглеродным методом, с использованием в качестве углеводорода –  $^{14}\text{C}$ -октадекана (Ильинский, Семененко, 1994).

## 3. Результаты и обсуждение

Важное значение для окисления микроорганизмами нефтяных углеводородов имеет наличие биогенных элементов в водной среде. Наши исследования показали, что по содержанию фосфатов и азота, который присутствовал в виде нитратов и нитритов, не было обнаружено существенных отличий между обеими станциями (табл. 1).

Очевидно, что столь небольшие различия между этими двумя станциями обусловлены активно идущими в водах залива процессами естественного очищения. Для полного окисления 1 мг нефти требуется 4 мг нитратов (ZoBell, 1964), фосфора надо примерно на порядок меньше. По сравнению с показателями концентрации фосфатов по Кольскому заливу по состоянию за 1997 г. (в пределах

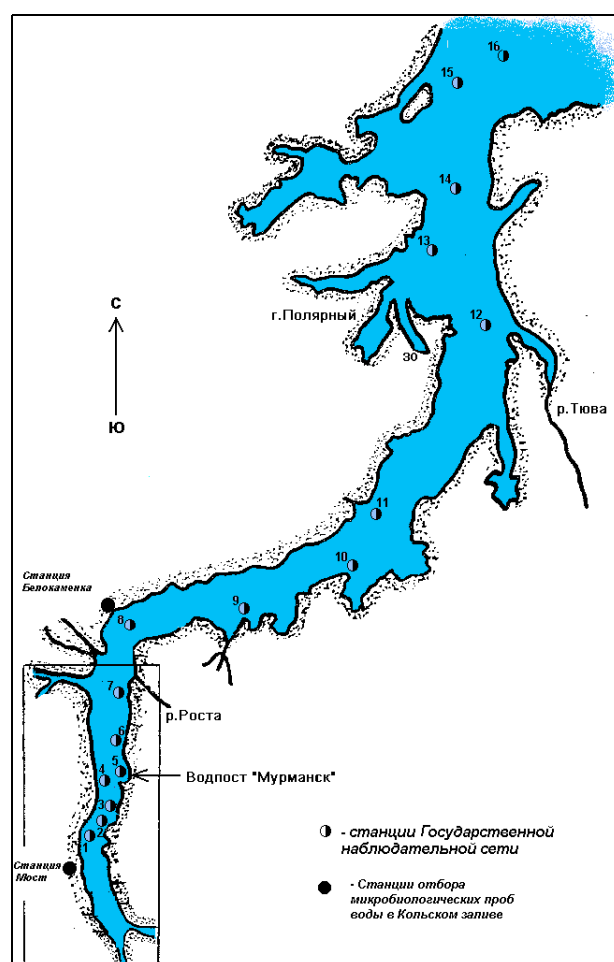


Рис. 1. Схема отбора проб воды в Кольском заливе

0,02-0,08 мг/л) наши показатели находятся ближе к минимальным значениям (0,018-0,019 мг/л), но этого вполне достаточно для окисления нефтяных загрязнений, имеющих на исследованных нами станциях. Содержание нитратов и нитритов по результатам наших исследований оказалось выше (нитраты 0,077-0,078 мг/л, нитриты 0,005 мг/л) по сравнению с данными за 1997 г. (нитраты 0,04-0,06 мг/л, нитриты 0,001 мг/л) – эта концентрация слишком низкая для окисления нефтяных углеводов.

Изменение солености способно оказывать влияние на скорость биodeградации нефтяных углеводов морскими бактериями. По нашим данным, показатели солености на второй станции (24,86 ‰) незначительно превышают значения первой станции (19,41 ‰), что свидетельствует о большей степени опреснения водных масс в районе станции I за счет речных стоков (табл. 2).

Свободный (растворенный) кислород необходим для окисления углеводов. По литературным данным, содержание кислорода в морской воде колеблется в пределах 0-15 мг/л в зависимости от температуры, глубины и различных биологических процессов. Известно, что для полного окисления 1 мг углеводов необходимо как минимум 3-4 мг кислорода (Израэль, Цыбань, 1989). Наши показатели растворенного кислорода находятся в соответствующих пределах (8,95-9,54).

Температуры воды на станциях варьировали от 0,7 до 11 °С.

Среднее для всего залива содержание растворенных в воде нефтепродуктов составляет 44 мкг/л, т.е. находится примерно на уровне предельно допустимого значения (ПДК для нефтепродуктов 50 мкг/л), (табл. 3). Максимальное содержание углеводов (54 мкг/л) отмечено в районе станции I в весенний сезон (рис. 2) (Петрухина и др., 2006).

Таблица 1. Содержание биогенных элементов в воде Кольского залива

	нитриты NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/л	нитраты NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/л	фосфаты PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , мг/л
Станция I	0,005	0,078	0,019
Станция II	0,005	0,077	0,018

Таблица 2. Абиотические параметры воды Кольского залива

	S, ‰	O <sub>2</sub> , мг/л
Станция I	19,41	9,54
Станция II	24,86	8,95

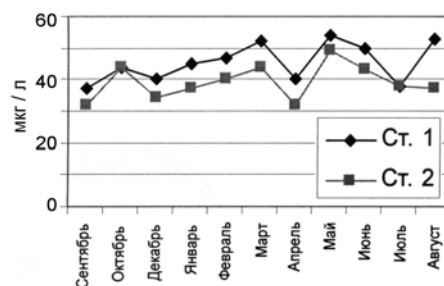


Рис. 2. Содержание в воде нефтепродуктов на станции 1 и 2

Таблица 3. Изменение углеводородокисляющей активности гетеротрофного бактериопланктона

Сезон, месяц	№ станц.	УВ, мкг/л	N <sub>общ</sub> кл/мл	Тем-ра воздуха, °С	Тем-ра воды, °С	ПЕМ <sub>окт</sub> , мкг·л <sup>-1</sup> ·ч <sup>-1</sup>	A <sub>вкл-сред.</sub> , мкг·л <sup>-1</sup> ·ч <sup>-1</sup>	ПЕБ <sub>окт</sub> , мкг·л <sup>-1</sup> ·ч <sup>-1</sup>	ПЕБ <sub>окт</sub> /ПЕМ <sub>окт</sub>	
Осень	Сент.	1	1,2±0,1·10 <sup>7</sup>	6,6	5,7	0,098±0,003	0,183±0,002	0,244	2,84	
		2	32		1,3±0,07·10 <sup>7</sup>	6,2	0,102±0,002	0,187±0,004	0,249	2,83
	Окт.	1	44	1,7±0,04·10 <sup>7</sup>	0,7	3,2	0,086±0,005	0,158±0,009	0,244	2,84
		2	44	1,2±0,08·10 <sup>7</sup>		3,7	0,088±0,005	0,161±0,003	0,249	2,83
Зима	Февр.	1	47	1,1±0,08·10 <sup>7</sup>	-10,8	0,7	0,08±0,005	0,145±0,002	0,225	2,81
		2	40	2,4±0,2·10 <sup>6</sup>		1,4	0,079±0,005	0,146±0,003	0,225	2,85
	Март	1	52	1,6±0,05·10 <sup>7</sup>	-6,9	1,7	0,089±0,004	0,159±0,004	0,248	2,79
		2	44	6,7±0,1·10 <sup>6</sup>		2,2	0,083±0,005	0,148±0,009	0,231	2,78
Апр.	1	40	1,4±0,1·10 <sup>7</sup>	-1,6	3,0	0,084±0,007	0,152±0,009	0,236	2,81	
	2	32	8,5±0,3·10 <sup>6</sup>		3,4	0,081±0,005	0,138±0,003	0,219	2,7	
Весна	Май	1	54	1,5±0,1·10 <sup>7</sup>	3,4	9,1	0,084±0,003	0,148±0,003	0,232	2,76
		2	49	1,1±0,2·10 <sup>7</sup>		9,6	0,083±0,004	0,148±0,005	0,231	2,78
	Июнь	1	50	2,5±0,07·10 <sup>7</sup>	9,3	10,1	0,093±0,005	0,173±0,006	0,266	2,8
		2	43	2,5±0,1·10 <sup>7</sup>		10,6	0,096±0,003	0,178±0,005	0,274	2,85
Лето	Июль	1	38	3,0±0,04·10 <sup>7</sup>	12,6	10,2	0,108±0,003	0,193±0,004	0,301	2,79
		2	38	2,6±0,2·10 <sup>7</sup>		11,0	0,105±0,004	0,19±0,006	0,295	2,81
	Авг.	1	53	1,2±0,05·10 <sup>8</sup>	11,3	10,1	0,102±0,003	0,186±0,006	0,288	2,82
		2	37	1,2±0,04·10 <sup>8</sup>		10,9	0,104±0,002	0,188±0,005	0,292	2,81

Примечание: N<sub>общ</sub> – общая численность бактерий; ПЕМ<sub>окт</sub> – потенциал естественной минерализации <sup>14</sup>C-октадекана; A<sub>вкл</sub> – количество <sup>14</sup>C, включенного в клетки; ПЕБ<sub>окт</sub> = ПЕМ<sub>окт</sub> + A<sub>вкл</sub> – суммарное количество <sup>14</sup>C-октадекана, минерализованного микроорганизмами

При изучении численности бактериопланктона было уделено внимание изучению микроорганизмов, обитающих в поверхностном микрослое воды. Этот вопрос имеет большое значение в

связи с концентрированием на границе раздела воздух – вода многих загрязняющих веществ. В воде литорали Кольского залива исследовали сезонную динамику количественного распределения бактериопланктона. Максимум численности бактерий в воде ( $N_{\text{ОЧБ}}$ ) нами был обнаружен на обеих станциях в августе –  $1,2 \cdot 10^8$  кл/мл (табл. 3), что можно объяснить повышенной концентрацией загрязняющих органических и неорганических веществ, так как по литературным данным в акваториях, загрязненных хозяйственно-бытовыми стоками, обилие бактерий достигало  $2,7 \cdot 10^7$  кл/л. Минимальные значения наблюдались на станции 1 в январе –  $4,7 \cdot 10^6$  кл/мл, на станции 2 в феврале –  $2,4 \cdot 10^6$  кл/мл (табл. 3). Таким образом, пределы колебаний  $N_{\text{ОЧБ}}$  в данной экосистеме сравнительно невелики и составляют два порядка.

О сезонной динамике  $N_{\text{ОЧБ}}$  в воде литорали Кольского залива можно отметить, что на обеих станциях в весенний период численность микроорганизмов незначительно повышается и летом достигает максимального значения, что отражает общую тенденцию, характерную для всех живых организмов.

При определении скоростей биодеградации нами было установлено (табл. 3), что в одном литре воды в течение часа при температурах *in situ* микроорганизмами окисляется до углекислого газа и воды от 0,079 до 0,108 микрограмм октадекана в час (или в среднем  $0,094 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$ ) ( $\text{ПЕМ}_{\text{окт}}$ ). Среднее значение  $\text{ПЕБ}_{\text{окт}}$  составляет  $0,263 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$ .

Изменения УВ-окисляющей активности бактериопланктона носят выраженный сезонный характер и связаны с изменениями температуры воды. Минимальные значения  $\text{ПЕБ}_{\text{окт}}$  наблюдаются на обеих станциях в декабре и январе, когда температура воды близка к минимальной. Максимальные же значения УВ-окисляющей активности бактериопланктона ( $\text{ПЕБ}_{\text{окт}}$  более  $0,25 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$ ) имеют место в летний период времени, в июне-августе, при максимальных температурах воды (рис. 3).

Показатель  $\text{ПЕМ}_{\text{окт}}$  не коррелировал с концентрациями УВ в воде. Очевидно, что наблюдавшиеся различия в уровнях содержания УВ в исследованных прибрежных водах не оказывали существенного влияния на активность бактерий.

Кроме того, содержание УВ в пробах воды, взятых даже из одного и того же горизонта одной и той же станции, может существенно колебаться в течение сравнительно короткого периода времени – нескольких суток (Ильинский, 2000).

Скорость же минерализации меченого УВ микроорганизмами, присутствующими в этих пробах воды, при температурах *in situ* составляла от  $0,138 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$  до  $0,193 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$ . Согласно полученным нами данным, в течение суток в одном кубическом метре воды микроорганизмами минерализуется в среднем 2,16 мг н-алканов, а всего разрушается ими 7,2 мг. Среднее содержание углеводов в кубическом метре этой же воды составляет 44 мг. Таким образом, в течение года за сутки микроорганизмами окисляется около 14 % присутствующих в данной акватории углеводов, из них только третья часть полностью минерализуется до углекислого газа и воды. Это означает, что основная часть поступающих нефтяных загрязнений выносятся в открытые воды Баренцева моря, а также накапливается в воде и донных осадках. Поэтому исследованная экосистема может характеризоваться как не справляющаяся с антропогенной нагрузкой по данному виду загрязнений.

Согласно данным литературы, в морских и пресных водоемах доля минерализованных бактериями нефтяных углеводов составляет обычно третья часть от всего использованного их количества. Из полученных нами данных для двух станций Кольского залива следует, что величина отношения между общим количеством потребленного микроорганизмами углеводорода – октадекана ( $\text{ПЕБ}_{\text{окт}}$ ) и доли его, минерализованной до углекислого газа и воды ( $\text{ПЕМ}_{\text{окт}}$ ) сохраняется независимо от сезона года относительно постоянной и составляет 2,7-2,9. Таким образом, на полное окисление (энергетический метаболизм) расходуется не более 40 % от общего количества углеводорода, потребленного бактериопланктоном. Остальное (60 %) включается в клетки микроорганизмов и используется на конструктивный метаболизм. Это соотношение имеет важное экологическое значение, поскольку показывает, какая часть использованного микроорганизмами органического углерода может быть затем доступна организмам более высоких трофических уровней.

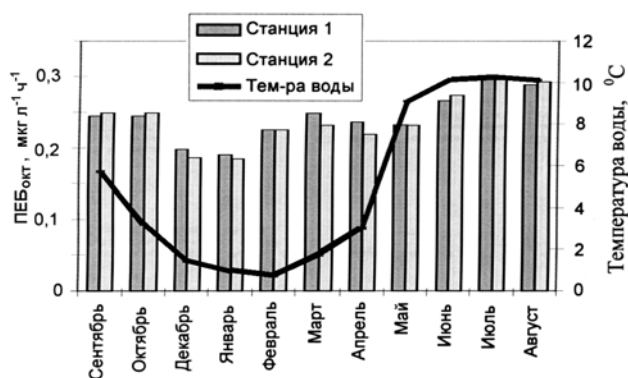


Рис. 3. Углеводородокисляющая активность бактериопланктона литорали Кольского залива

#### 4. Заключение

Гетеротрофные бактерии составляют неотъемлемую часть водных экосистем разных широт, и их активность во многом определяет интенсивность и характер процессов естественного очищения гидросферы от широкого спектра загрязняющих веществ, в число которых входят и нефтяные УВ.

Очевидно, что для достоверной оценки вклада микроорганизмов в процессы естественного очищения вод от нефтяных углеводородов нельзя ограничиваться только учетом численности углеводородоксилирующих бактерий. В данном случае совершенно необходимы непосредственные измерения скоростей микробиологических процессов в условиях, максимально приближенных к естественным. Этого можно достичь, используя радиоуглеродные методы. С их помощью нами было установлено, что значимая микробная деструкция УВ имеет место даже при низких температурах воды в зимний период, при этом резкого ее спада по сравнению с летним периодом не наблюдается.

Таким образом, в течение года за сутки микроорганизмами окисляется около 14 % присутствующих в данной акватории углеводородов, из них только третья часть полностью минерализуется до углекислого газа и воды. Это означает, что основная часть поступающих нефтяных загрязнений выносятся в открытые воды Баренцева моря, а также накапливается в донных осадках. Поэтому исследованная экосистема может характеризоваться как не справляющаяся с антропогенной нагрузкой по данному виду загрязнений.

В целом микробное население водных экосистем, независимо от уровня их загрязнения нефтяными УВ, потенциально способно вносить значимый вклад в процессы естественного очищения вод от этих поллютантов. Это связано с широким распространением УВ в природе: они не являются чужеродными для водных экосистем, и синтезируются *in situ* флорой и фауной (Ильинский, 2000).

#### Литература

- ZoBell С.Е.** The occurrence effects and fate of oil pollution in the sea. *London, Pergamon Press*, p.87, 1964.  
Доклад государственного комитета по охране окружающей среды Мурманской области. *Мурманск*, 200 с., 2000.
- Израэль Ю.А., Цыбань А.В.** Антропогенная экология океана. *Л., Гидрометеоиздат*, 528 с., 1989.
- Ильинский В.В.** Гетеротрофный бактериопланктон: экология и роль в процессах естественного очищения среды от нефтяных загрязнений. *Автореферат дис. ... докт. биол. наук, М., Изд-во МГУ*, 53 с., 2000.
- Ильинский В.В., Семенов М.Н.** Ускоренный радионуклидный метод определения активности микроорганизмов в природных водах. *Микробиология*, т.63(5), с.924-928, 1994.
- Кольский залив: океанография, биология, экосистемы, поллютанты. Под ред. Г.Г. Матишова. *Апатиты, Изд-во КНЦ РАН*, 265 с., 1997.
- Коронелли Т.В., Дермичева С.Г., Ильинский В.В., Комарова Т.И., Поршнева О.В.** Видовая структура углеводородоксилирующих бактериоценозов водных экосистем разных климатических зон. *Микробиология*, т.63(5), с.917-923, 1994.
- Перетрухина И.В., Ильинский В.В., Кудасов В.И., Литвинова М.Ю., Балина Т.В.** Определение углеводородоксилирующей активности бактериальных сообществ в воде Кольского залива. *Международная научно-практическая конференция "Наука и образование-2006"*, Мурманск, МГТУ, с.593-596, 2006.