

УДК 575.224:574.2 (574)

## БИОНДИКАЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АККУМУЛЯЦИИ НЕФТЕПРОИЗВОДНЫХ, ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ОРГАНИЗМЕ ГИДРОБИОНТОВ КАЗАХСТАНСКОЙ ЗОНЫ КАСПИЯ

Кожакметова А.Н., Бигалиев А.Б., Шаметов А.К.

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, e-mail: aitkhazha@gmail.com

В данном исследовании изучены аккумуляция нефти и сопутствующие тяжелых металлов в объектах водной среды. Конкретизированы биоиндикаторы для казахстанской зоны Каспия и проведен их оптимальный выбор. В качестве тест-объектов взяты: 1 вид полихет – *Nereis diversicolor*, 3 вида рыб: *Abramis brama*, *Sander sander*, *Sander volgensis*, 2 вида моллюсков – *Dreissena polymorpha*, *Unio pictorum*. Использовали методы атомно-адсорбционной спектрофотометрии и газожидкостной хроматографии. Проведены идентификация основных химических загрязнителей водной среды и прибрежной зоны, лабораторные исследования по динамике накопления загрязнителей в органах и тканях тест-объектов для оценки экологического риска компонентов нефти. Анализ содержания бенз(а)пирена показал, что количество исследуемого нефтепроизводного в рассмотренных видах рыб превышает ПДК для рыбопродуктов более чем в 30 раз. Среди всех исследуемых тест-объектов наиболее высокое содержание бенз(а)пирена выявлены у полихет (0,381 мкг/г), что можно объяснить особенностями среды обитания и типом питания организмов. Накопление тяжелых металлов у исследуемых видов сходны с особенностями накопления бенз(а)пирена, т.е. свойственное для представителей беспозвоночных. Выявлено превышение ПДК по содержанию ряда тяжелых металлов в бентосных организмах: *Dreissena polymorpha* – максимальное накопление тяжелых металлов, сопутствующих нефти (в частности, железо, свинец, никель), в раковине. Определение аккумуляции и оценка влияния полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) и их метаболитов, как специфических ксенобиотиков в зоне добычи, переработки и транспортировки нефти, является чрезвычайно актуальной проблемой казахстанского шельфа Каспийского моря.

**Ключевые слова:** биоиндикация, тест-системы, гидробионты, газожидкостная хроматография, атомно-адсорбционная спектрометрия, пирен, бенз(а)пирен, нефть, нефтепродукты

## BIOLOGICAL INDICATION RESEARCH OF OIL PRODUCTS AND HEAVY METALLS ACCUMULATE PROCESSING IN HYDROBIOTS BODY OF KAZAKHSTANE BRANCHE OF CASPIAN SEA

Kozhakhmetova A.N., Bigaliev A.B., Shametov A.K.

Al Farabi Kazakh National University, Almaty, e-mail: aitkhazha@gmail.com

At the research oil and heavy metals accumulate processing in water subjects body was studied. It has detailed of biological indicators for optimum election. As test-objects has take: 1 polichet species – *Nereis diversicolor*, 3 fish species: *Abramis brama*, *Sander sander*, *Sander volgensis*, 2 mollusca species – *Dreissena polymorpha*, *Unio pictorum*. It was used atomic-absorption spectrophotometers method and gas liquid chromatography method. Basis chemical pollutants identification of water and Caspian sea branch carry out and laboratory researches of pollutions accumulate dynamics in test-objects body for ecological risk assessment of oil products. Has obtained content of benz(a)pyren in fish body is more 30 times then limited concentration for fish products. Maximum benz(a)pyren content in *Nereis diversicolor* body (0,381 mkg/g), which depend of nutrition tips. The similarly results was obtained as accumulate benz(a)pyren. In body mollusca is more intensive accumulate of heavy metals. For example of *Dreissena polymorpha* have maximum heavy metals levels in body. Estimation and evaluation effect of polycyclic aromatic carbons and their metabolic products accumulated processing is very actually problems of kazakhstane branch of Caspian sea in during oil treatment and transportation.

**Keywords:** biological indication, test-system, hydrobiotes, gas liquid chromatography method, atomic-absorption spectrophotometers method, pyrene, benz(a)pyrene, oil, oil production

Интенсивное развитие нефтедобывающей промышленности в Республике Казахстан приводит к крупномасштабному загрязнению природной среды нефтью и нефтепродуктами. Поэтому особую актуальность приобретает оценка влияния нефтяного загрязнения природной среды на наследственность живых организмов. Последствия воздействия химических загрязнителей окружающей среды проявляются на уровне хромосомной патологии, лежащей в основе злокачественной транс-

формации клеток, в увеличении специфической заболеваемости и снижении устойчивости организма к факторам окружающей среды. В частности, изучение изменений на хромосомном уровне с помощью цитогенетического метода стало важнейшим индикатором в оценке действия мутагенов на организмы растений и животных, в том числе и человека [1]. Очевидно, при проведении генетического мониторинга необходимо использовать сочетание природных объектов со стандартными лабораторными

тест-системами, чтобы выводы относительно генетических изменений в природных популяциях были адекватными.

По данным ряда специалистов компоненты нефти (углеводороды, бенз(а)пирен, фенолы, тяжелые металлы и другие) способны оказывать токсическое, мутагенное, канцерогенное влияние, которое может привести к нарушению генетической структуры популяции [2, 3].

**Цель исследования** – исследовать динамику накопления нефти и сопутствующих тяжелых металлов в органах и тканях отобранных представителей беспозвоночных и гидробионтов для эколого-генетической оценки последствий.

**Материалы и методы исследования**

В качестве тест-объектов взяты организмы, обитающие в устье реки Урал, а именно в эстуарии «река-море», то есть средой обитания являются, как речная вода, загрязненная в основном нефтью и сопутствующими тяжелыми металлами, так и морская. Для получения наиболее полной картины загрязнения исследуемого региона отбирали виды, представляющие разные систематические группы и трофические уровни экосистемы. Все выбранные виды относятся к аккумулятивным биоиндикаторам, накапливающие загрязнители без быстро проявляющихся нарушений.

Для определения тяжелых металлов готовили пробы из расчета 1 грамм биосубстрата из тканей тест-объекта. В каждую пробу добавляли по 4 мл концентрированной азотной кислоты и помещали в специальные контейнеры «бомбы», а затем в сухо-жаровой термостат на 4–6 часов. Анализ тяжелых металлов в биосубстратах проводили на атомно-адсорбционном спектрофотометре МГА-915МД. Расчетным методом (математический анализ) определяли содержание тяжелых металлов, а стронция – эмиссионным методом анализа [4].

Для определения содержания бенз(а)пирена в организме тест-объектов использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ, SYCAM, Германия) [5]. У рыб в органах – жабры, печень, гонады, мышцы; у моллюсков – мягкие ткани; у остальных объектов общую биомассу.

**Результаты исследования и их обсуждение**

Бентосные организмы характеризуются высокой вариабельностью по накоплению тяжелых металлов. Значительные колебания по содержанию тяжелых металлов в бентосе объясняются, прежде всего, разнообразием химического состава биотопов бентосных популяций и особенностями их образа жизни (наличием у значительного числа представителей малоподвижных форм, а также типом питания). Многие представители бентосных организмов характеризуются исключительно высокой аккумулятивной активностью и способны накапливать в организме большое количество тяжелых металлов. В ряде случаев микроэлементный состав бентоса оказывает большое влияние на химический состав этих групп гидробионтов, в том числе и на организм рыб путем передачи элементов по пищевой цепи.

Гидробионты, как правило, хорошо отражают химический элементный состав донных отложений в местах их обитания. Методом атомно-адсорбционной спектрофотометрии нами проведен анализ содержания тяжелых металлов в органах и тканях одного вида рыб – *Abramis brama*, двух видов моллюсков – *Dreissena polymorpha*, *Unio pictorum*. Полученные результаты представлены в табл. 1.

**Таблица 1**

Содержание тяжелых металлов в органах и тканях двух видов рыб и моллюсков

Название пробы	Навески, г	Cu, мг/кг	Cd, мг/кг	Pb, мг/кг	Zn, мг/кг	Fe, мг/кг	Ni, мг/кг	Sr, мг/кг
Печень ( <i>Abramis brama</i> ) в формалине	0,43	2,57 ± 0,02	0	66,36 ± 0,6	8,9 ± 0,3	149,8 ± 0,8	0,55 ± 0,06	5,45 ± 0,01
Мышцы ( <i>Abramis brama</i> ) в формалине	0,81	3,0 ± 0,09	0	18,61 ± 0,55	3,93 ± 0,11	34,44 ± 1,03	1,4 ± 0,04	8,34 ± 0,02
Жабры ( <i>Abramis brama</i> ) в формалине	1,105	0,5 ± 0,01	0	58,47 ± 0,62	10,99 ± 0,32	174,15 ± 1,4	1,14 ± 0,03	6,216 ± 0,01
Гонады ( <i>Abramis brama</i> ) в формалине	0,54	0	0	33,44 ± 0,05	5,59 ± 0,01	76,19 ± 0,67	1,47 ± 0,05	4,64 ± 0,01
<i>Dreissena polymorpha</i> (мяг. ткани)	0,16	0,0288 ± 0,001	0,0045 ± 0,001	0,504 ± 0,01	4,096 ± 0,12	0,8 ± 0,02	0,08 ± 0,002	1,0 ± 0,03
<i>Dreissena polymorpha</i> (раковина)	0,6	1,188 ± 0,004	0,26 ± 0,001	9,72 ± 0,28	1,56 ± 0,05	40,0 ± 1,3	4,56 ± 0,02	1,0 ± 0,04
<i>Unio pictorum</i> (мяг. ткани)	0,95	0,96 ± 0,02	0,46 ± 0,01	16,18 ± 0,48	14,49 ± 0,43	226,67 ± 6,80	1,91 ± 0,05	1,67 ± 0,05
<i>Unio pictorum</i> (раковина)	0,79	3,408 ± 0,11	0,71 ± 0,02	18,46 ± 0,6	2,15 ± 0,1	22,57 ± 0,73	11,97 ± 0,3	2,33 ± 0,05

Как видно из данных табл. 1 максимальное количество содержания тяжелых металлов в пределах обследованных органов рыбы (вида *Abramis brama*) наблюдается в жабрах, затем печени и мышцах. Причем наибольшую способность к аккумуляции проявляют железо, свинец, цинк, медь, а стронций накапливается примерно в одинаковом количестве во всех органах. Отмечается также отсутствие аккумуляции кадмия во всех исследованных органах. Причем все эти элементы значительно превышают установленные гигиенические нормативы (ПДК) для рыбопродуктов (1 мг/кг).

Из данных, полученных на двух видах моллюсков, следует, что у вида *Dreissena polymorpha* отмечается максимальное накопление тяжелых металлов в раковине, в частности это относится к железу, свинцу и никелю. У второго вида *Unio pictorum* содержание железа, свинца и кадмия примерно в одинаковых количествах, как в мягких тканях так и в раковине, а цинк в больших количествах обнаружен в мягких тканях, содержание никеля и меди выше в раковине. В отдельных исследованиях показано, что в моллюсках по сравнению с другими гидробионтами отмечается наибольшее накопление большинства тяжелых металлов. Моллюски как бентосные организмы обладают повышенной восприимчивостью на загрязнение водных экосистем и, прежде всего, донных отложений. Так, в этих

исследованиях установлено, что тяжелые металлы активно аккумулируются протеинами морских моллюсков и ракообразных. Выявлена роль тяжелых металлов в активации металлотионинов, а также изменение потребности в них организма моллюска в процессе нормального его функционирования [6, 7]. Данные этого положения подтверждаются исследованиями по кинетике усвоения кадмия у пресноводных моллюсков, в которых показано, что аккумуляция кадмия в органах и тканях моллюска идет линейно до определенной концентрации его в воде (в пределах 5 мкг/л). При повышении концентрации (до 25 мкг/л) накопление кадмия происходит интенсивно, а затем наступает предел насыщения организма кадмием и прекращается его поступление [8]. При сравнении с результатами ранее проведенных исследований, характеризующих содержание тяжелых металлов в мягких тканях исследуемых видов моллюсков, наши данные свидетельствуют о меньшей величине накопления тяжелых металлов по сравнению с органами рыб.

*Содержание бенз(а)пирена в организме тест-объектов.* В результате проведенных исследований установлено, что происходит накопление бенз(а)пирена в тканях гидробионтов, это указывает на включение ПАУ в процессы метаболизма водных организмов (табл. 2). Обнаружена видовая специфичность аккумуляции данного нефтепроизводного.

Таблица 2

Содержание бенз(а)пирена в тест-объектах

Органы и название вида	Место сбора	Год сбора	Содержание бенз(а)пирена, мкг/г
Мышцы леща <i>Abramis brama</i>	Устье р. Урал	2010	0,0066 ± 0,0002
		2011	0,015 ± 0,0005
Жабры леща <i>Abramis brama</i>	Устье р. Урал	2010	0,0264 ± 0,0007
		2011	0,037 ± 0,0011
Мышцы берша <i>Sander volgensis</i>	Устье р. Урал	2010	0,2597 ± 0,0077
Жабры берша <i>Sander volgensis</i>	Устье р. Урал	2011	0,2042 ± 0,0061
Мышцы судака <i>Sander lucioperca</i>	Устье р. Урал	2010	0
Жабры судака <i>Sander lucioperca</i>	Устье р. Урал	2011	0,0974 ± 0,0029
Моллюск <i>Unio pictorum</i>	Устье р. Урал	2010	0
		2011	0,0131 ± 0,0003
Моллюск <i>Dreissena polymorpha</i>	Устье р. Урал	2010	0
		2011	0,375 ± 0,0112
Полихеты, <i>Nereis diversicolor</i>	Сев. Каспий	2010	0
		2011	0,1125 ± 0,0033

При сравнении результатов содержания бенз(а)пирена в объектах 2010 и 2011 гг. сбора отмечено достоверное повышение концентрации данного поллютанта, что указывает на увеличение объема промышленных выбросов (нефтепроизводных) в исследуемом регионе. При общем сравнении концентрации бенз(а)пирена в тест-объектах все полученные результаты значительно превышают уровень ПДК, что говорит о высокой степени загрязнения исследуемого региона нефтепродуктами по сравнению с допустимыми уровнями (ПДК для мяса и рыбопродуктов – 0,001 мг/кг, в водной среде – 0,000005 мг/л, атмосферный воздух – 0,1 мкг/100 м<sup>3</sup>, почва – 0,02 мг/кг, донные отложения – 0,02 мг/кг).

Содержание бенз(а)пирена в органах рыб имеет видовую специфичность. Так, у леща и судака концентрация бенз(а)пирена в жабрах выше, чем в мышцах. У вида берш помимо того, что общее количество бенз(а)пирена достаточно высокое, большая его часть находится в мышцах, а не в жабрах. Можно полагать, неблагоприятным экологическим условиям судак и лещ более устойчивы. Об этом свидетельствуют усиление морфо-физиологических показателей изученных видов рыб, как продуктивность и другие, что способствует накоплению ПАУ в мышцах.

Таким образом, использованные нами виды гидробионтов могут служить достаточно информативными биоиндикаторами степени загрязнения водной среды нефтепродуктами и позволяют оценить реальную экологическую опасность для биоты и населения.

### Выводы

Исследованиями на гидробионтах установлено:

- максимальное количество содержания тяжелых металлов в пределах обследованных органов рыбы (вида *Abramis brama*) наблюдается в жабрах, затем печени и мышцах; наибольшую способность к аккумуляции проявляют железо, свинец, цинк, медь, а стронций накапливается примерно в одинаковом количестве во всех органах; отмечается также отсутствие аккумуляции кадмия во всех исследованных органах; все эти элементы значительно превышают установленные гигиенические нормативы (ПДК) для рыбопродуктов (1 мг/кг);

- на двух видах моллюсков следует, что у вида *Dreissena polymorpha* отмечается максимальное накопление тяжелых

металлов в раковине, в частности это относится к железу, свинцу и никелю. У второго вида *Unio pictorum* содержание железа, свинца и кадмия примерно в одинаковых количествах, как в мягких тканях, так и в раковине. Отмечается, тканеспецифическое и видовое накопление отдельных элементов в организме исследованных тяжелых металлов;

- содержание бенз(а)пирена в органах рыб имеет видовую специфичность. Так, у леща и судака концентрация бенз(а)пирена в жабрах выше, чем в мышцах, У вида берш помимо того, что общее количество бенз(а)пирена достаточно высокое, большая его часть находится в мышцах, а не в жабрах;

- при сравнении результатов содержания бенз(а)пирена в объектах 2010 и 2011 гг. сбора отмечено достоверное повышение концентрации данного поллютанта, что указывает на увеличение объема промышленных выбросов (нефтепроизводных) в исследуемом регионе. При общем сравнении концентрации бенз(а)пирена в тест-объектах все полученные результаты значительно превышают уровень ПДК, что говорит о высокой степени загрязнения исследуемого региона нефтепродуктами по сравнению с допустимыми уровнями (ПДК для мяса и рыбопродуктов – 0,001 мг/кг, в водной среде – 0,000005 мг/л, атмосферный воздух – 0,1 мкг/100 м<sup>3</sup>, почва – 0,02 мг/кг, донные отложения – 0,02 мг/кг).

### Список литературы

1. Бигалиев А.А., Дарибаев Ж., Бекишбеков Э.З., Атаханова К.Я., Ишанова Н.Е. Бияшева З.М, Бигалиев А.Б., Исенов Х.А. Эколого-генетическая оценка влияния поллютантов на природные популяции растений, животных и человека // Материалы V съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященного 200-летию Чарльза Дарвина. – 2009. – 320 с.
2. Ильин Г.В. Накопление и распространение нефтяных углеводородов и ПАУ в Азовском море // Вестник южного научного центра РАН. – 2011. – № 2 (7). – С. 49–53.
3. Кокорина Ю.А., Ерубаева Г.К., Ишанова Н.Е. Воздействие нефтяного загрязнения на природные экосистемы // Вестник КазГУ. Сер. экологическая. – 2001. – № 1(8). – С. 54–55.
4. Грановский Э.И., Неменко Б.А. Современные методы определения тяжелых металлов и их применение для биологического мониторинга. – Алма-Ата, 1990. – С. 40–73.
5. Чуйкин А.В., Григорьев С.В., Великов А.А. Определение нефтяных загрязнений в водных образцах с использованием хроматографии в парах воды // Нефтехимия. – 2006. – Т. 46, № 1. – С. 65–69.
6. Павловская В.В. Удельное содержание металлоидов в тканях моллюсков – биоиндикатор загрязнения водоема тяжелыми металлами / И.А. Данилин, В.В. Павловская // «Вестник РУДН» серия Экология и безопасность жизнедеятельности. – М., 2006. – № 2 (14). – С. 87–92.

7. Павловская В.В. Анализ ответной реакции моллюска *Dreissena polymorpha* при действии ионов тяжелых металлов с позиции биоиндикации / В.В. Павловская, Е.А. Залуцкая, И.А. Данилин // Материалы 6-й международной научной конференции Сахаровские чтения 2006 года: Экологические проблемы XXI века. – Минск, Республика Беларусь. – 18–19 мая 2006 г. – С. 197–200.

8. Довженко Н.В., Куриленко А.В., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. Кадмий-индуцируемый окислительный стресс в тканях мидии *Modiolus modiolus* II Биол. моря. – 2005. – Т. 31, № 5. – С. 358–362.

### References

1. Bigaliev A.A., Daribaev Zh., Bekishbekov Je.Z., Atahanova K.Ja., Ishhanova N.E. Bijasheva Z.M., Bigaliev A.B., Isenov H.A. Jekologo-geneticheskaja ocenka vlijanija polljutantov na prirodnye populjacie rastenij, zhivotnyh i cheloveka // Materialy V sezda Vavilovskogo obshhestva genetikov i selekcionerov, posvjashhennogo 200-letiju Charl'za Darvina. 2009. 320 p.

2. Ибн Г.В. Накопление и распространение нефтяных углеводородов в ПАУ в Азовском море // Vestnik juzhnogo nauchnogo centra RAN. 2011. no. 2 (7). pp. 49–53.

3. Kokorina Ju.A., Erubaeva G.K., Ishhanova N.E. Vozdejstvie nefljanogo zagryaznenija na prirodnye jekosistemy // Vestnik KazGU. Ser. jekologicheskaja. 2001. no. 1(8). pp. 54–55.

4. Granovskij Je.I., Nemenko B.A. Sovremennye metody opredelenija tzhzhelyh metallov i ih primenenie dlja biologicheskogo monitoringa. Alma-Ata, 1990. pp. 40–73.

5. Chujkin A.V., Grigor'ev S.V., Velikov A.A. Opredelenie nefljanых zagryaznenij v vodnyh obrazcah s ispol'zovaniem

hromatografii v parah vody // Neftehimija. 2006. T. 46, no. 1. pp. 65–69.

6. Pavlovskaja V.V. Udel'noe sodержание metallotioneinov v tkanjah molljuskov bioindikator zagryaznenija vodoema tzhzhelymi metallami / I.A. Danilin, V.V. Pavlovskaja // «Vestnik RUDN» serija Jekologija i bezopasnost' zhiznedejatel'nosti. M., 2006. no. 2 (14). pp. 87–92.

7. Pavlovskaja V.V. Analiz otvetnoj reakcii molljuska *Dreissena polymorpha* pri dejstvii ionov tzhzhelyh metallov s pozicij bioindikacii / V.V. Pavlovskaja, E.A. Zaluckaja, I.A. Danilin // Materialy 6-oj mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii Saharovskie chtenija 2006 goda: Jekologicheskie problemy XXI veka. Minsk, Respublika Belarus. 18–19 maja 2006g. pp. 197–200.

8. Dovzhenko N.V., Kurilenko A.V., Belcheva N.N., Chelomin V.P. Kadmij-induciruemyj oksislitel'nyj stress v tkanjah midii *Modiolus modiolus* II Biol. morja. 2005. T. 31, no. 5. pp. 358–362.

### Рецензенты:

Мукашева Т.Д., д.б.н., профессор, кафедра биотехнологии, Казахский национальный университет имени аль-Фараби Министерства образования и науки РК, г. Алматы;

Нуржанова А.А., д.б.н., профессор, Институт биологии и биотехнологии растений Министерства образования и науки РК, г. Алматы.

Работа поступила в редакцию 28.01.2015