

УДК 543.383.2: (574.454:582.232)

В. П. Гусейнова, А. В. Курейшевич

**ПРЕСНОВОДНЫЕ МИКРОВОДОРОСЛИ КАК
ИСТОЧНИК ВНЕКЛЕТОЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
УГЛЕВОДОРОДНОЙ ПРИРОДЫ**

С помощью метода определения нефтепродуктов в воде исследовано содержание углеводородов в культуральных средах некоторых видов *Cyanophyta* (*Cyanoprokaryota*) и *Chlorophyta*. Показано, что наличие углеводородов водорослевого происхождения может вносить ошибку в оценку степени загрязнения водоёмов нефтепродуктами. Проведен качественный и количественный анализ соединений углеводородной природы микроводорослей.

Ключевые слова: углеводороды, нефтепродукты, зелёные водоросли, синезелёные водоросли.

Пул соединений углеводородной природы в водной среде формируют аллохтонные углеводороды — нефть и нефтепродукты, попадающие в водоёмы в результате антропогенного влияния, и автохтонные — метаболиты гидробионтов. Углеводороды, выделяемые водорослями, играют важную роль в формировании качества воды, однако в связи с методическими трудностями они изучены недостаточно. Как в процессе жизнедеятельности, так и после отмирания клеток водорослей в водную среду попадает значительное количество углеводородов, но при проведении мониторинга качества воды источников водоснабжения экзометаболиты водных растений не учитываются [2, 5, 7, 11, 14, 15]. В системах водоподготовки нередко возникают сложности с интерпретацией данных по изменению содержания нефтепродуктов (аллохтонных углеводородов) в отстойниках, поскольку после хранения воды в резервуарах этот показатель зачастую увеличивается.

Существующие методы определения нефтепродуктов в водоёмах дают возможность учитывать только общее содержание углеводородной фракции, которая содержит как нефтепродукты, так и метаболиты гидробионтов. В связи с тем, что при мониторинге качества воды автохтонные углеводороды не определяются отдельно от нефтепродуктов, существенный интерес представляет оценка количественных показателей внеклеточных соединений углеводородной природы пресноводных микроводорослей.

Целью работы было исследовать содержание углеводородов в культуральных средах некоторых видов синезелёных и зелёных водорослей с помо-

© В. П. Гусейнова, А. В. Курейшевич, 2013

щью метода определения нефтепродуктов в воде, а также проанализировать качественный и количественный состав углеводородных комплексов.

Материал и методика исследований. Были использованы альгологически чистые культуры синезелёных водорослей: *Anabaena cylindrica* Lemm. HPDP-1, *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend. Elenkin HPDP-6, *Nostoc punctiforme* (Kütz.) Hariot HPDP-48, *Oscillatoria acutissima* Kuff. HPDP-64, *Phormidium autumnale* f. *uncinata* (Ag.) Kondrat. (= *Phormidium uncinatum* Ag.) HPDP-36, и зелёных водорослей: *Acutodesmus obliquus* (Turp.) Tsar. (= *Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kütz.) HPDP-104, *Chlorella vulgaris* Beijer. HPDP-119 и *Monoraphidium contortum* (Thur.) Kom.-Legn. HPDP-105.

Водоросли выращивали на среде Фитцджеральда № 11 в модификации А. Цендера и П. Горема [10] в стандартных лабораторных условиях на осветительной установке с люминесцентными лампами дневного света, при освещенности 3000 лк с чередованием светового и темного периодов 16 : 8 часов и температуре 20—23°C.

Определение сухого вещества культур водорослей проводили стандартным весовым методом [8]. Содержание углеводов в пробах устанавливали согласно общепринятому методу определения нефтепродуктов [9]. Углеводороды экстрагировали по методике П. Станчева [13] после отделения клеток от среды с использованием гидрофобного органического растворителя — низкокипящей фракции петролейного эфира (40—60°C).

Соединения углеводородной природы идентифицировали с помощью газового хромато-масс-спектрометра Hewlett Packard GS/MS 5890/5972 (колонка HP 5MS $l = 30$ м, $d = 0,25$ мм). Идентифицированными считались вещества, точность определения которых составляла 80% и выше.

Результаты исследований и их обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что в культуральных средах водорослей содержалось значительное количество веществ углеводородной природы, которые регистрируются прибором как нефтепродукты. Содержание так называемых «нефтепродуктов», а в действительности углеводородов водорослевого происхождения в культуральных средах исследованных водорослей, выращиваемых на протяжении 1 мес, составляло 0,037—0,072 мг/дм³, т. е. находилось на уровне 1 ПДК_{рыб} (1 ПДК_{рыб} = 0,05 мг/дм³), а зачастую превышало этот показатель (табл. 1).

В пересчёте на 1 г сухого вещества содержание углеводов также было достаточно высоким. Это позволяет сделать вывод о том, что существующие методы определения нефтепродуктов в водоёмах, регистрирующие суммарное количество углеводов (как автохтонных, так и аллохтонных), при интенсивном развитии фитопланктона могут не отображать реальную ситуацию загрязнения водоёмов этими веществами.

Аналогичные исследования со средами водорослей, культивируемых более длительное время — от 6 до 10 мес, показали, что содержание «нефте-

1. Содержание углеводов в культуральных средах водорослей (возраст культур — 1 мес)

Культуры водорослей	Содержание углеводов	
	мг/дм ³	мг/г сухого в-ва
Cyanophyta		
<i>Anabaena cylindrica</i>	0,037	0,051
<i>Microcystis aeruginosa</i>	0,044	0,074
<i>Nostoc punctiforme</i>	0,053	0,066
<i>Oscillatoria acutissima</i>	0,037	0,098
<i>Phormidium autumnale</i> f. <i>uncinata</i>	0,060	0,127
Chlorophyta		
<i>Acutodesmus obliquus</i>	0,049	0,050
<i>Chlorella vulgaris</i>	0,072	0,110
<i>Monoraphidium contortum</i>	0,054	0,070

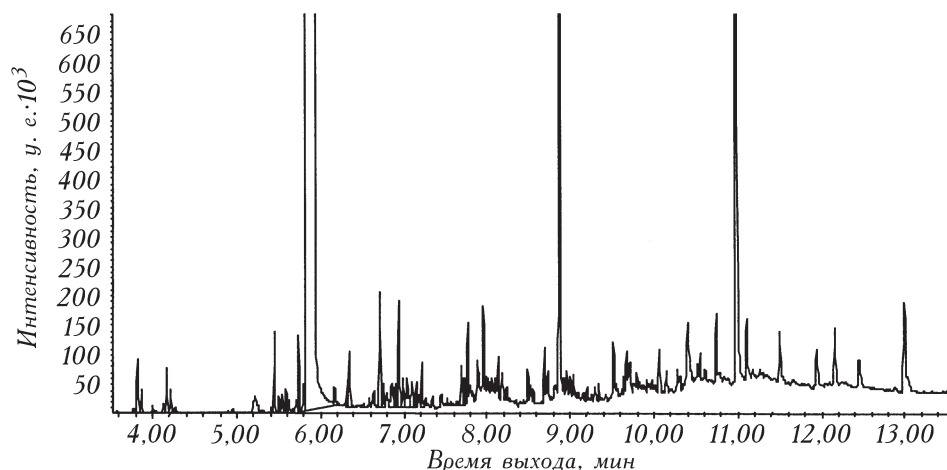
2. Содержание углеводов в культуральных средах водорослей (возраст культур — 6—10 мес)

Культуры водорослей	Содержание углеводов	
	мг/дм ³	мг/г сухого в-ва
Cyanophyta		
<i>Microcystis aeruginosa</i>	0,106	0,097
<i>Nostoc punctiforme</i>	0,110	0,036
<i>Phormidium autumnale</i> f. <i>uncinata</i>	0,155	0,075
Chlorophyta		
<i>Acutodesmus obliquus</i>	0,062	0,055
<i>Chlorella vulgaris</i>	0,140	0,432

продуктов» в них было ещё выше как в единицах объёма культуральной среды (имели место случаи двух-трехкратного превышения ПДК_{рыб}), так и в пересчёте на сухую массу (табл. 2).

Таким образом, наличие углеводов водорослей, попадающих в воду с прижизненными и постлетальными выделениями, может вносить ошибку в оценку степени загрязнения водоёмов нефтепродуктами.

Высокие значения биомассы водорослей нередко встречаются в природных условиях не только во время «цветения» воды водорослями. Из литературных источников [16—18] известно, что сырая масса обрастаний с доминированием водоросли *Phormidium autumnale* f. *uncinata* на стенах шлюзов составляла 400—1250 г/м², на обстановочных буях — 500—2700, на берего-



1. Хроматограмма углеводородного комплекса, экстрагированного из культуральной среды синезелёной водоросли *Phormidium autumnale* f. *uncinata*.

вых откосах — 900—3000 г/м². Исходя из этих данных можно сделать вывод, что количество соединений углеводородной природы, выделяемых водорослями обрастающих, может быть весьма внушительным.

С целью изучения качественного состава углеводов были исследованы экстракты культуральных сред синезелёной водоросли *Phormidium autumnale* f. *uncinata* и зелёной водоросли *Chlorella vulgaris*, в которых содержание углеводов было максимальным (см. табл. 1 и 2).

Анализ хроматограммы углеводородного комплекса, экстрагированного из культуральной среды *Phormidium autumnale* f. *uncinata* (рис. 1), показал, что в его состав входят насыщенные, ненасыщенные и ароматические углеводороды и их производные (табл. 3). Только насыщенные являются индифферентными, ненасыщенные и алициклические — более реакционноспособны, а ароматические — чрезвычайно токсичны [4, 12].

Содержание насыщенных углеводов и их производных в экстракте синезелёной водоросли составляло 10,71% общего количества. Это: 3,7-диметилдекан, 2,6,10,14-тетраметилгексадекан, *n*-гексадекан, *n*-гептадекан, *n*-октадекан, 2,6,10-триметилдодекан, 9-метилнонадекан, *n*-генийкозан, *n*-трикозан, *n*-пентакозан, 11-децилдокозан. Из ненасыщенных углеводов и их производных в данном экстракте присутствовал только 1,2,3-пропанетриол-диацетат, его доля составляла 1,25%.

Относительное количество ароматических углеводов и их производных было максимальным (62,04%). В их состав входили 4-этоксипропиловый эфир бензойной кислоты, ди-(2-метилпропиловый) эфир 1,2-бензэндикарбоновой кислоты, дибутиловый эфир 1,2-бензэндикарбоновой кислоты, октилдифениламин, трифенилфосфат, ди-(2-этилгексиловый) эфир 1,2-бен-

3. Состав углеводородных комплексов, экстрагированных из культуральной среды синезелёной водоросли *Phormidium autumnale* f. *uncinata* (I) и зелёной водоросли *Chlorella vulgaris* (II)

Время выхода вещества, мин	Вещества	Содержание в экстракте, %	
		I	II
4,21	3,7-диметилдекан	0,57	0,49
5,22	1,2,3-пропанетриолдиацетат	1,25	—
5,51	2,3,6-триметилдекан	—	0,29
5,54	2,6,10,14-тетраметилгексадекан	0,49	0,43
6,17	<i>n</i> -тетрадекан	—	0,35
6,64	1,4-дион, 2,6-ди(1,1-диметилэ-тил)-2,5-циклогексадиен	—	0,37
6,76	10-метилтридекан	—	0,49
6,79	<i>n</i> -пентадекан	—	0,43
6,91	4-этоксиэтиловый эфир бензойной кислоты	1,66	0,85
7,04	<i>n</i> -гексадекан	1,12	—
7,08	5,6,7,7а-тетрагидро-4,4,7а-триметил-2(4Н)-бензофуранон	—	1,17
7,15	<i>n</i> -гептадекан	0,47	0,40
7,22	<i>n</i> -октадекан	1,04	0,70
7,73	2,6,10-триметилдодекан	0,83	0,61
7,81	<i>n</i> -эйкозан	—	1,37
7,89	9-метилнонадекан	2,21	—
8,00	<i>n</i> -генеюкозан	1,27	1,50
8,07	<i>n</i> -докозан	—	0,88
8,14	<i>n</i> -трикозан	1,29	0,95
8,50	ди-(2-метилпропиловый) эфир 1,2-бензендикарбоновой кислоты	0,90	0,54
8,88	дибутиловый эфир 1,2-бензендикарбоновой кислоты	15,62	6,39
8,93	<i>n</i> -пентакозан	0,68	0,59
8,97	<i>n</i> -гексакозан	—	0,75
9,00	<i>n</i> -гептакозан	—	0,59
9,07	<i>n</i> -триаконтан	—	0,60
9,31	1-трикозен	—	0,66
9,80	11-децилдокозан	0,74	—

Продолжение табл. 3

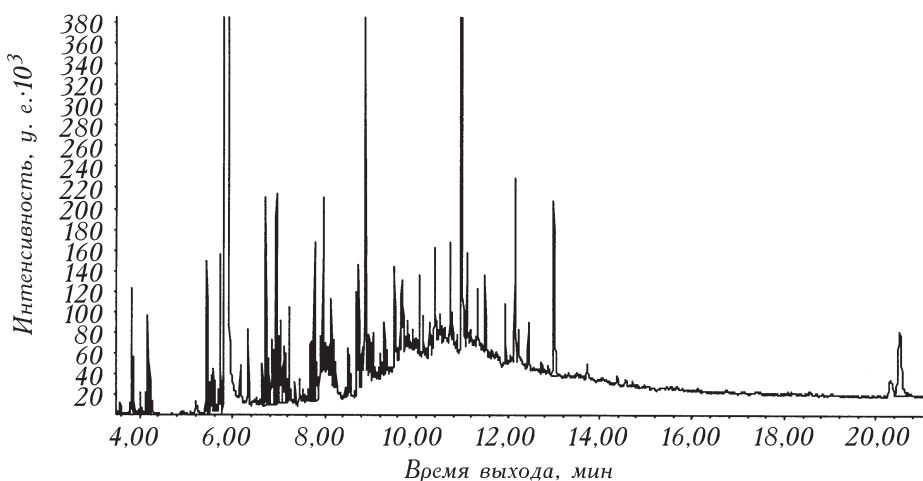
Время выхода вещества, мин	Вещества	Содержание в экстракте, %	
		I	II
10,15	октилдифениламин	0,80	0,57
10,55	трифенилфосфат	2,83	—
10,98	ди-(2-этилгексилловый) эфир 1,2-бензендикарбоновой кислоты	37,49	51,72
12,16	2,6,10,14,18-пентаметил- 2,6,10,14,18-эйкозапентен	—	2,71
13,00	<i>p,p'</i> -диоктилдифениламин	2,74	3,18

зендикарбоновой кислоты и *p,p'*-диоктилдифениламин. Больше всего — 37,49% в культуральной среде *Phormidium autumnale* f. *uncinata* содержалось ди-(2-этилгексилловый) эфира 1,2-бензендикарбоновой кислоты.

В составе углеводородного комплекса, экстрагированного из культуральной среды *Chlorella vulgaris* (рис. 2), наряду с насыщенными, ненасыщенными и ароматическими углеводородами и их производными зафиксировано производное алициклического углеводорода — 1,4-дион, 2,6-ди(1,1-диметил-этил)-2,5-циклогексадиен, его доля составила 0,37% (см. табл. 3). Насыщенных углеводородов и их производных в этом экстракте содержалось 11,06%. Это: 3,7-диметилдекан, 2,3,6-триметилдекан, 2,6,10,14-тетраметилгексадекан, *n*-тетрадекан, 10-метилтридекан, *n*-пентадекан, *n*-гептадекан, *n*-октадекан, 2,6,10-триметилдодекан, *n*-эйкозан, *n*-генийкозан, *n*-докозан, *n*-трикозан, *n*-пентакозан, *n*-гексакозан, *n*-гептакозан и *n*-триаконтан. Из ненасыщенных углеводородов и их производных (3,37% общего количества) обнаружены 1-трикозен и 2,6,10,14,18-пентаметил-2,6,10,14,18-эйкозапентен.

Как и в предыдущем варианте, содержание ароматических углеводородов и их производных было максимальным — 64,42%. В их составе: 4-этоксипропиловый эфир бензойной кислоты, 5,6,7,7а-тетрагидро-4,4,7а-триметил-2(4H)-бензофуранон, ди-(2-метилпропиловый) эфир 1,2-бензендикарбоновой кислоты, дибутиловый эфир 1,2-бензендикарбоновой кислоты, октилдифениламин, ди-(2-этилгексилловый эфир) 1,2-бензендикарбоновой кислоты, *p,p'*-диоктилдифениламин. В наибольшем количестве — 51,72% в пробе содержался дибутиловый эфир 1,2-бензендикарбоновой кислоты.

Таким образом, в исследуемых экстрактах из культуральной среды сине-зелёной и зелёной водорослей в максимальном количестве присутствовали ароматические углеводороды. Это свидетельствует в пользу того, что и в природной среде прижизненные и постлетальные выделения водорослевого происхождения в значительной мере содержат эти токсичные соединения. Известно, что нафталин, антрацен, фенантрен и их производные, а также соединения ароматических углеводородов с хлором канцерогенны. Даже небольшое их количество не только ухудшает качество воды для потребите-



2. Хроматограмма углеводородного комплекса, экстрагированного из культуральной среды зелёной водоросли *Chlorella vulgaris*.

лей, но и представляет опасность для нормальной жизнедеятельности гидробионтов [19].

Следует отметить, что во всех экстрактах обнаружены эфиры 1,2-бензидикарбоновой кислоты. Это соединение используется в промышленности для придания пластичности полимерам [1]. Не исключено, что наличие его производных в исследованных экстрактах связано с повышением пластичности и упругости клеток водорослей, особенно их оболочек, что свойственно и его синтетическому аналогу.

Проведенные ранее исследования показали, что содержание углеводородного слоя на поверхности клеток различных видов микроводорослей отличается более чем в 300 раз [4, 6]. Их минимальное количество (0,01—0,06% сухой массы) обнаружено у представителей планктонных синезелёных водорослей, максимальное (0,36—3,43%) — у зелёных, что, по нашим данным, определяет устойчивость последних к токсикантам и свидетельствует о защитной роли углеводов, локализованных на поверхности клеток. Важно отметить, что максимальное количество углеводов было обнаружено в культуральной среде видов с наибольшим содержанием углеводов на поверхности клеток — планктонной зелёной водоросли *Chlorella vulgaris* и перифитонной синезелёной *Phormidium autumnale* f. *uncinata*.

Заключение

Стандартные методы определения содержания нефтепродуктов в воде, применяемые в системах контроля качества воды и водоподготовки, не способны выявить долю автохтонных углеводов гидробионтов.

Содержание углеводов в культуральных средах может быть достаточно высоким (0,04—0,43 мг/дм³) и зависит от вида водорослей и длительности культивирования.

При анализе данных о содержании нефтепродуктов в водоёмах необходимо учитывать, что как в процессе жизнедеятельности, так и после отмирания водоросли являются источником углеводов, которые могут вносить существенную ошибку в интерпретацию полученных результатов.

Комплексы веществ углеводородной природы у различных видов водорослей различаются по качественным и количественным характеристикам. В их составе обнаружены насыщенные, ненасыщенные, алициклические и ароматические углеводороды и их производные. В культуральных средах исследованных видов водорослей в наибольшем количестве обнаружены ароматические углеводороды, ухудшающие качество воды и токсичные для гидробионтов.

**

За допомогою методу визначення нафтопродуктів у воді досліджено вміст вуглеводнів у культуральних середовищах деяких видів Cyanophyta (Cyanoprokaryota) і Chlorophyta. Показано, що вуглеводні водоростевого походження можуть вносити похибку в оцінку ступеня забруднення водойм нафтопродуктами. Проведено якісний та кількісний аналіз сполук вуглеводневої природи мікрводоростей.

**

The cultural media of some species of Cyanophyta (Cyanoprokaryota) and Chlorophyta have been investigated with application of the method of determination of petroleum products concentrations in water. It was shown that the algal hydrocarbons are able to contribute the significant error in the estimation of contamination degrees of the water bodies by hydrocarbons. The qualitative and quantitative analysis of the algal hydrocarbon compounds was carried out.

**

1. Барнштейн Р.С., Кирилович В.И., Носовский Ю.Е. Пластификаторы для полимеров. — М.: Химия, 1982. — 198 с.
2. Богданов Н.И. Биологическая реабилитация водоемов. — Пенза: РИО ПГСХА, 2008. — 152 с.
3. Гауптман З., Грефе Ю., Ремане Х. Органическая химия. — М.: Химия, 1979. — 831 с.
4. Гусейнова В.П. Сполуки вуглеводневої природи у функціонуванні прісноводних мікрводоростей: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — К., 2010. — 24 с.
5. Гусейнова В.П., Курейшевич А.В. Экзометаболиты планктонных водорослей и их роль в загрязнении среды: Материалы III Междунар. конф. «Экологическая химия-2005», Кишинев, 20—21 мая 2005 г. — Кишинев, 2005. — С. 67.
6. Гусейнова В.П., Сакевич А.И. Углеводороды клеточных оболочек пресноводных водорослей и некоторые аспекты их экологического метаболизма // Гидробиол. журн. — 2007. — Т. 43, № 4. — С. 62—76.

7. Курейшевич А.В., Гусейнова В.П., Сакевич А.И. Влияние метаболитов водорослей на качество воды в условиях действия природных и антропогенных факторов // Там же. — 2003. — Т. 39, № 6. — С. 57—73.
8. *Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод* / За ред. В.Д. Романенка. — К.: ЛОГОС, 2006. — 408 с.
9. *Методика* выполнения измерений массовой концентрации нефтепродуктов в пробах питьевых, природных и сочных вод флуориметрическим методом на анализаторе жидкости «Флюорат — 02». МВВ 99-12-98. Санкт-Петербург. 1998. — 20 с.
10. *Методы* физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. — Киев: Наук. думка, 1975. — 247 с.
11. Сакевич А.И. Экзометаболиты пресноводных водорослей. — Киев: Наук. думка, 1985. — 199 с.
12. Сиренко Л.А., Козицкая В.Н. Биологически активные вещества водорослей и качество воды. — Киев: Наук. думка, 1988. — С. 72—82.
13. Станчев П.И. Нов метод за системен анализ при изследване на състава на едноклетъчни водоросли // Хидробиология. — 1980. — № 10. — С. 70—77.
14. Хильчевський В.К. Водопостачання та водовідведення. Гідроекологічні аспекти: Підручник. — К.: ВПЦ «Київський університет», 1999. — 320 с.
15. Хромов В.М. Растительные сообщества в мониторинге пресных вод источников водоснабжения: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. — М., 2004. — 43 с.
16. Шевченко Т.Ф. Водоросли перифитона Каневского и Кременчугского водохранилищ // Гидробиол. журн. — 1996. — Т. 32, № 6. — С. 32—42.
17. Шевченко Т.Ф. Фитоперифитон Днепродзержинского и Запорожского водохранилищ // Там же. — 1998. — Т. 34, № 1. — С. 33—40.
18. Шевченко Т.Ф. Видовой состав водорослей фитоперифитона водохранилищ Днепровского каскада // Там же. — 2007. — Т. 43, № 3. — С. 3—44.
19. Aksmann A. Intact anthracene inhibits photosynthesis in algal cells: a fluorescence induction study on *Chlamydomonas reinhardtii* cw 92 strain // Chemosphere. — 2008. — Vol. 74, N 1. — P. 26—32.