

УДК 504.054: 569.745

ПРИРОДА И ХАРАКТЕР ЗАГРЯЗНЕНИЯ НЕФТЕПРОДУКТАМИ КАСПИЙСКОГО ТЮЛЕНЯ (*PUSA CASPICA*)

© 2025 г. Е. С. Бродский^{a, *}, А. А. Шелепчиков^{a, b}, А. Д. Кудрявцева^a, М. А. Соловьёва^a,
Е. Я. Мир-Кадырова^a, Ф. В. Климов^c, В. В. Рожнов^{a, **}

^aИнститут проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН,
Россия 119071 Москва, Ленинский просп., 33

^bВсероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных
и кормов, Россия 123022 Москва, Звенигородское шоссе, 5

^cКазахстанское Агентство Прикладной Экологии (ТОО «КАПЭ»),
Казахстан 050000 Алматы, просп. Жибек жолы, 157

*e-mail: efbr@mail.ru

**e-mail: rozhnov-v-2015@yandex.ru

Поступила в редакцию 14.03.2024 г.

Принята к публикации 14.02.2025 г.

Изучены нефтепродукты в образце жира мертвого каспийского тюленя, выброшенного на побережье Каспийского моря. Показано, что содержание нефтепродуктов в жировой ткани каспийского тюленя (*Pusa (Phoca) caspica*) сравнительно велико, но меньше, чем максимальные значения, которые обнаруживали ранее. Нефтепродукты в жировой ткани тюленя представляют собой *n*- и изо-алканы, алкилзамещенные моно-, би- и трициклоалканы, алкилбензолы, нафтен- и динафтенбензолы, алкилнафталины, в небольших количествах аценафтены, флуорены, фенантрены, нафтофенантрены, флуорантены/пирены, а также бензотиофены. Ароматические соединения составляют около 50% всех нефтепродуктов, полиароматические углеводороды (включая нафталины) – около 10%. Содержание незамещенных ароматических соединений (за исключением фенантрена) сравнительно мало, основную часть составляют молекулы с 3–12 атомами С в алкильных заместителях. Распределение *n*-алканов с высоким вкладом *n*-C₁₇, а также превалирование четных *n*-алканов C₁₆–C₁₈ и C₂₂–C₂₄ свидетельствует о их происхождении из различных биогенных источников. Доля нефтепродуктов составляет около 40% от всех экстрагируемых соединений жировой ткани.

Ключевые слова: каспийский тюлень, *Pusa capsica*, нефтепродукты, методы анализа, ГХ/МС

DOI: 10.31857/S0367059725020044 **EDN:** TZNDMY

Каспийское море населяет единственный представитель морских млекопитающих, эндемик этого водоема – каспийский тюлень (*Pusa (Phoca) caspica* Gmelin, 1788), который занесен в Красную книгу Российской Федерации [1]. Кроме естественных природных факторов (состояние ледового покрова, уровень Каспийского моря, сейсмическая активность и сопровождающие ее процессы выделения газов и слипов нефти), благополучие этого вида определяется такими антропогенными факторами, как нелегальный промысел, прилов в рыболовные сети, судоходство в ледовый период, деградация местообитаний из-за промышленного загрязнения, подрыв кормовой базы вследствие изъятия ресурсов [2, 3].

Нефтепродукты (НП) являются одним из основных антропогенных загрязнителей каспийского тюленя. В период массовой гибели тюленей

в 2000 г. содержание НП составляло в среднем 344.94 мг/кг в печени и 622.6 мг/кг в подкожно-жировой клетчатке [4]. В 2011–2015 гг. содержание НП в тканях каспийского тюленя составляло 36.4–90.3 мг/кг, в том числе ароматических углеводородов 4.0–14.3 мг/кг (относительное содержание 5.0–18.2%) [5]. Хотя содержание НП в организме тюленей уменьшилось по сравнению с 2000 г., оно все еще было относительно велико, так что определение НП относится к приоритетам при анализе загрязнения биоты Каспия [6]. Концентрации НП в подкожно-жировой клетчатке 210 мг/кг и выше приводят к депрессивному состоянию популяции тюленя [4]. Отмечена корреляция между содержанием НП и яловостью самок [7].

Как правило, при характеристике нефтяного загрязнения биологических проб либо определяют несколько отдельных классов соединений, прежде

всего нормальных алканов и полиароматических углеводородов (ПАУ), либо оценивают суммарное содержание НП [8–13]. Необходимо также учитывать, что нефтепродукты – собирательное название для соединений разной природы, экстрагируемых неполярным растворителем и очищенных от полярных соединений, и это определение не связано непосредственно с нефтяной и тем более антропогенной природой экстрагируемых соединений. Наряду с нефтяными углеводородами в экстрактах биопроб присутствуют биогенные соединения, в том числе имеющие такое же строение, как и нефтяные, что может приводить к завышению фактического уровня загрязнения [14, 15]. Кроме того, при экстракции неполярным растворителем биопроб с большим содержанием жира вместе с НП и другими неполярными соединениями извлекается ряд липидов, которые могут подавлять сигнал целевых соединений. Проблема удаления жира решается разными способами: адсорбционное разделение на колонках с сорбентом, гель-хроматография, “сжигание” кислотой молекул полярных липидов с функциональными группами. После такой очистки определение неполярных соединений в экстракте осуществляется методами люминесценции, ультрафиолетовой (УФ) спектрометрии, газовой хроматографии (ГХ), высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), газовой хроматографии/масс-спектрометрии (ГХ/МС) и т.п.

Такие интегральные методы, как гравиметрия, инфракрасная фотометрия, УФ- и люминесцентная спектрометрия, дают определенный сигнал, который на основании калибровки связывается с содержанием НП. Однако, поскольку неизвестна природа выделяемых соединений, калибровочный стандарт выбирается достаточно произвольно. Высокоинформативные дифференциальные методы (ГХ, ВЭЖХ и ГХ/МС) позволяют определить большой набор углеводородов и гетероатомных соединений в образцах окружающей среды и биопробах, среди которых имеются такие специфические соединения-маркеры, как *n*-алканы и изопренаны, алкены, биомаркерные стераны, гопаны, ПАУ, а также жирные кислоты, спирты, стероиды и др. Тем не менее эти соединения служат только индикаторами присутствия биогенных соединений, а к нефтепродуктам в целом относят “горб” неразрешенных соединений на хроматограммах [16]. Охарактеризовать структуру компонентов в смеси неразделенных соединений можно методами группового МС или ГХ/МС анализа [17–20].

Принцип группового анализа – выделение пиков ионов, характеристичных для определенных

групп соединений (алканов, моноциклоалканов, бициклоалканов, алкилбензолов, алкилнафталинов и др.). Суммарная интенсивность пиков этих ионов после коррекции на взаимные наложения масс-спектров разных групп характеризует содержание соответствующих групп соединений. Коэффициенты чувствительности и наложений определяются по масс-спектрам индивидуальных соединений каждой группы. Пики молекулярных ионов характеризуют молекулярно-массовое распределение.

Цель данной работы – характеристика природы и вида нефтепродуктов в биоте методом ГХ/МС на примере подкожной жировой ткани каспийского тюленя.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Анализировали образец жира мертвого каспийского тюленя РС.PR-11/20–15(D), выброшенного на казахстанском побережье Каспийского моря в районе порта Баутино (координаты обнаружения: 44.46603° с.ш., 50.24253° в.д.) в ноябре 2020 г.

Навеску образца 0.5 г растирали с Na_2SO_4 и 10 мкл раствора внутреннего стандарта (*n*-фенилдекан, 0.4 мкг), экстрагировали 3 мл гексана в течение 30 мин на ротаторе, экстракт очищали на микроколонке с безводным сульфатом натрия и силикагелем, импрегнированным серной кислотой (44%). Экстракт анализировали на хромато-масс-спектрометре Q Exactive GC Orbitrap с кварцевой капиллярной колонкой SGE HT-8 (длина 28 м, внутренний диаметр 0.25 см, толщина пленки неподвижной фазы 0.25 мкм), температурная программа 60(2)–10 °С/мин–310 °С (20 мин), режим инжектирования без деления потока с началом продувки через 0.05 мин, сканирование масс-спектра в диапазоне 40–500 Да при номинальном разрешении 120 000, температура инжектора 280 °С, газ-носитель He, скорость потока 0.8 мл/мин.

Содержание и профиль *n*-алканов рассчитывали по площадям соответствующих им пиков на масс-хроматограмме по ионам, характерным для алканов (m/z 43, 57, 71, 85, 99, 113) [18]. Вклад суммы пиков этих ионов в полный ионный ток (ПИТ) мало меняется в зависимости от молекулярной массы и составляет 0.45–0.55. Групповой состав рассчитывали, используя площади под масс-хроматограммами, построенными по характеристическим ионам групп соединений. Вклады каждой группы в ПИТ нормировали к суммарной величине

ПИТ [18, 20]. Молекулярно-массовое распределение рассчитывали по характерным группам пиков молекулярных ионов M^+ , $(M-1)^+$ и $(M-15)^+$ [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 приведена масс-хроматограмма экстракта тюленьего жира по полному ионному току. Она содержит ряд пиков на фоне характерного широкого “горба” неразделенных соединений. Общее содержание экстрагируемых веществ, оцененное по площади “горба”, составляет 41.6 мкг/г, содержание *n*-алканов – 1.2 мкг/г. Полученное значение сравнимо с уровнями, обнаруженными в 2011–2015 гг. [5]. Площадь “горба” без выделяющихся пиков (соединений биогенного происхождения) можно отнести к нефтепродуктам – их содержание составляет 14.9 мкг/г. Таким образом, на собственно нефтепродукты приходится только около 40% всех экстрагируемых соединений.

Масс-хроматограммы по характерным ионам позволяют выделить различные классы НП. Распределение *n*-алканов в экстракте жира показано на рис. 2. Экстракт содержит *n*-алканы от C_{10} до C_{30} , причем можно выделить две области: C_{10} – C_{20} и C_{21} – C_{30} . В первой области наибольшее содержа-

ние имеет n - C_{17} . Повышенное содержание n - C_{17} характерно для природных сред с автохтонным биогенным составом углеводородов из водорослей [21, 22], а также обнаружено в донных отложениях Северного Каспия [23]. Кроме того, наблюдается относительное преобладание четных *n*-алканов: C_{12} , C_{14} , C_{16} , C_{18} , что неоднократно отмечалось для донных отложений и водной биоты [22, 24–26]. Предполагается, что они имеют бактериальное происхождение [24]. В области более тяжелых *n*-алканов также слабо выражено преобладание четных *n*-алканов C_{22} , C_{24} . Ранее *n*-алканы C_{16} – C_{24} с заметным преобладанием четных над нечетными обнаруживали на поверхности морских донных отложений, в тканях рыб и моллюсков [20]. Несколько повышенная интенсивность C_{29} показывает незначительный вклад нечетных алканов от высших наземных растений [21]. Возможно, что, помимо *n*-алканов биогенного происхождения, можно выделить фоновое плавное распределение пиков, относящихся к нефтяным *n*-алканам.

Групповой состав НП приведен в табл. 1. Состав экстракта типичен для нефтепродуктов, содержание ароматических углеводородов около 50%. Содержание ПАУ (включая нафталины) составляет 9.6%, т. е. около 1.43 мкг/г.

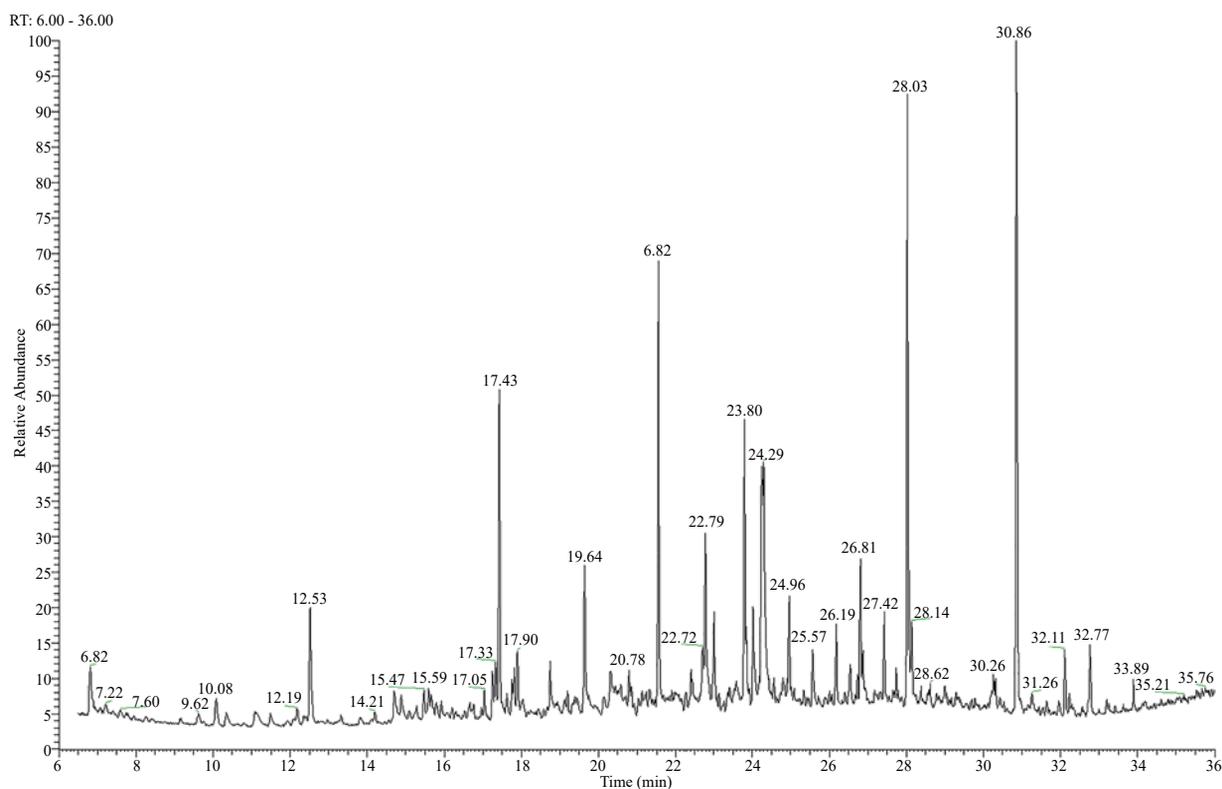


Рис. 1. Масс-хроматограмма по ПИТ экстракта тюленьего жира.

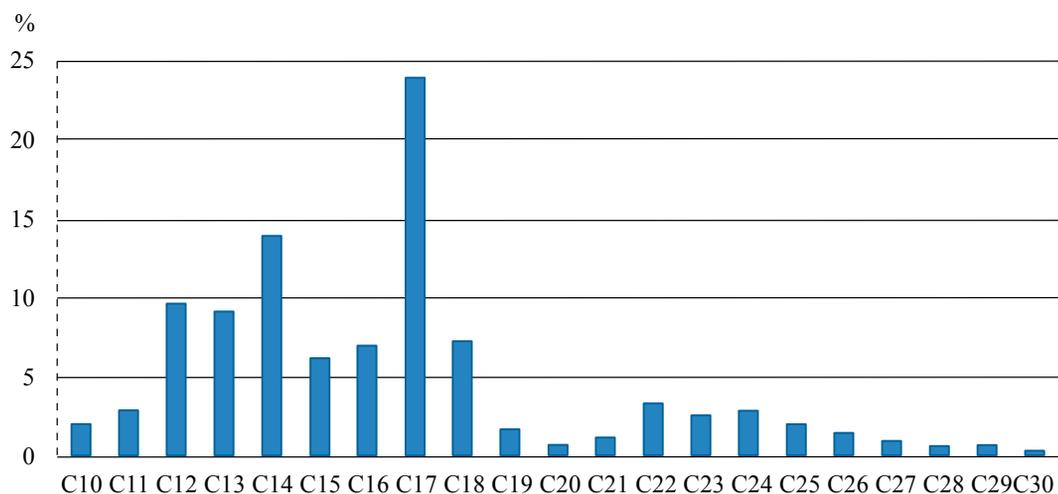


Рис. 2. Распределение n-алканов по числу атомов С в молекуле экстракта тюленьего жира.

Таблица 1. Групповой состав нефтяных углеводородов в экстракте тюленьего жира

Тип соединений	Эмпирическая формула	Содержание, % мас. отн.*
Алканы	$C_n H_{2n+2}$	10.6
Моноциклоалканы	$C_n H_{2n}$	8.6
Бициклоалканы	$C_n H_{2n-2}$	16.4
Трициклоалканы	$C_n H_{2n-4}$	10.6
Тетрациклоалканы	$C_n H_{2n-6}$	1.3
Алкилбензолы	$C_n H_{2n-6}$	26.0
Нафтенбензолы	$C_n H_{2n-8}$	13.5
Динафтенбензолы	$C_n H_{2n-10}$	3.2
Нафталины	$C_n H_{2n-12}$	5.6
Бифенилы, аценафтены	$C_n H_{2n-14}$	2.2
Флуорены	$C_n H_{2n-16}$	1.4
Фенантрены	$C_n H_{2n-18}$	0.34
Нафтофенантрены, фенилнафталины	$C_n H_{2n-20}$	0.06
Флуорантены, пирены	$C_n H_{2n-22}$	0.003
Дибензотиофены	$C_n H_{2n-10} S$	0.01

*Внутренняя нормализация.

На рис. 3 показаны распределения суммарных интенсивностей пиков ионов M^+ , $(M-1)^+$ и $(M-15)^+$ различных групп соединений. Основную часть ароматических соединений каждой группы составляют молекулы с 2–5 атомами С в алкильных заместителях. Концентрации соединений с более длинными цепями убывают по мере увеличения длины цепи.

Таким образом, содержание нефтепродуктов в жировой ткани тюленя сравнительно велико,

но меньше, чем максимальные значения, которые обнаруживали ранее. Нефтепродукты в жировой ткани тюленя представляют собой n- и изо-алканы, алкилзамещенные моно-, би- и трициклоалканы, алкилбензолы, нафтен- и динафтенбензолы, алкилнафталины, в небольших количествах аценафтены, флуорены, фенантрены, нафтофенантрены, флуорантены/пирены, а также бензотиофены. Ароматические соединения составляют около 50% всех нефтепродуктов, ПАУ (включая нафталины) – около

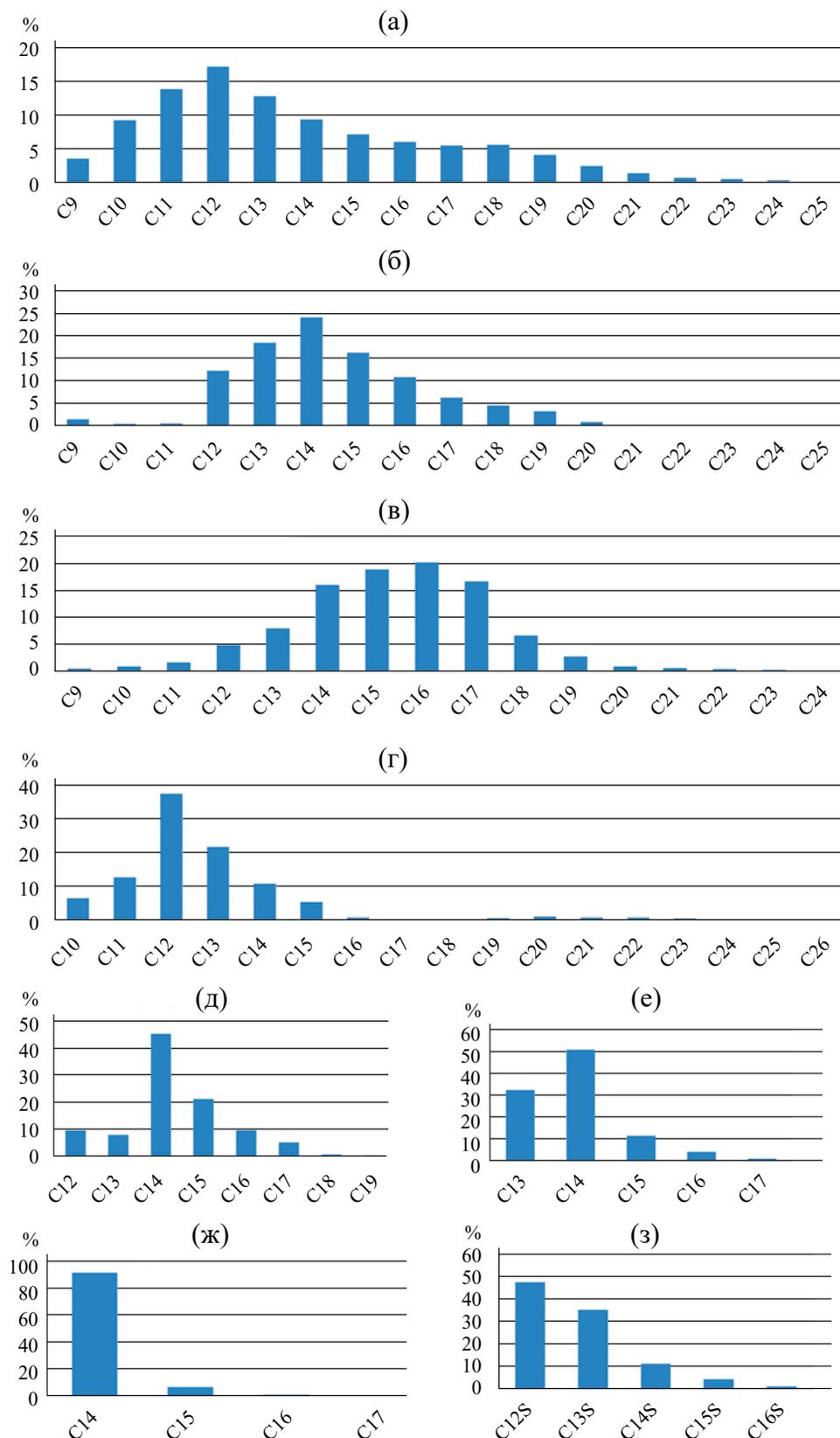


Рис. 3. Распределение гомологов ароматических соединений в экстракте тюленьего жира: а – алкилбензолы; б – нафтенбензолы; в – динафтенбензолы; г – нафталины; д – бифенилы, аценафтенны; е – флуорены; ж – фенантрены; з – дибензотиофены.

10%. Содержание незамещенных ароматических соединений (за исключением фенантрена) сравнительно невелико, основную часть составляют молекулы с 3–12 атомами С в алкильных заместителях. Состав групп углеводородов и распределение по молекулярным массам близки к дизельному топливу, но распределение несколько сдвинуто в более тяжелую область. Распределение n-алканов с высоким вкладом C_{17} , а также превалирование четных n-алканов C_{16} – C_{18} и C_{22} – C_{24} свидетельствует о присутствии различных видов биогенных источников углеводородов. Доля нефтепродуктов составила около 40% от суммы экстрагируемых соединений.

ФИНАНСИРОВАНИЕ И БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке North Caspian Operating Company N.V. и ТОО «Казахстанское агентство прикладной экологии». Авторы выражают благодарность руководству вышеуказанных компаний.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Красная книга Российской Федерации. Т. «Животные». 2-е изд. М.: ФГБУ «ВНИИ Экология», 2021. 1128 с.
2. Соловьёва М.А., Рожнов В.В. Каспийский тюлень *Phoca caspica* Gmelin, 1788 // Красная книга Российской Федерации. Т. «Животные». 2-е изд. М.: ФГБУ «ВНИИ Экология», 2021. С. 1011–1012.
3. Рожнов В.В., Бизиков В.А., Магомедов М.-Р.Д. и др. О гибели каспийских тюленей на дагестанском побережье Каспийского моря осенью 2020 г. и ее возможных причинах // Труды ВНИРО. 2022. Т. 187. С. 87–109. <https://doi.org/10.36038/2307-3497-2022-187-87-109>
4. Захарова Н.А. Уровень накопления и влияние ряда токсикантов на состояние популяции каспийского тюленя: Автореф. канд. дис. Астрахань, 2003.
5. Volodina V., Karygina N., Popova O. et al. The status of parenchymatous organs of the Caspian Seal *Phoca caspica* under the conditions of toxicant accumulation // Ekologia (Bratislava). 2018. V. 37. № 3. P. 230–242. doi:10.2478/eko-2018-0019
6. Государственный доклад «О состоянии и использовании водных ресурсов Российской Федерации в 2017 году». М.: НИА-Природа, 2018. 298 с.
7. Захарова Н.А. Влияние поллютантов на воспроизводительную способность популяции каспийского тюленя (*Phoca caspica* Smelin, 1788) // Морские млекопитающие Голарктики: Сборник научных трудов. СПб, 2006. С. 214–217.
8. Ashraf W., Mian A. Total petroleum hydrocarbon burden in fish tissues from the Arabian Gulf // Toxicological and Environmental Chemistry. 2010. V. 62. № 1. P. 61–66. <https://doi.org/10.1080/02772240902862220>
9. Enuneku A.A., Ainerua M., Erhunmwunse N.O., Osakue O.E. Total petroleum hydrocarbons in organs of commercially available fish // Ife Journal of Science. 2015. V. 17. № 2. P. 383–393.
10. Jisr N., Younes G.E., Omari K. et al. Levels of heavy metals, total petroleum hydrocarbons, and microbial load in commercially valuable fish from the marine area of Tripoli, Lebanon // Environmental Monitoring and Assessment. 2020. V. 192. Art. 705. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08672-w>
11. Muijs B., Jonker M.T.O. A closer look at bioaccumulation of petroleum hydrocarbon mixtures in aquatic worms // Environmental Toxicology and Chemistry. 2010. V. 29. № 9. P. 1943–1949. <https://doi.org/10.1002/etc.263>
12. Nozar S.L.M., Pauzi M.Z., Salarpouri A. et al. Total petroleum hydrocarbons in edible marine biota from Northern Persian Gulf // Environmental Monitoring and Assessment. 2015. V. 187. № 4. P. 1–6. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4443-4>
13. Shriadah M.A. Petroleum hydrocarbon concentrations in Arabian Gulf fish tissues // Bull. of Environmental Contamination and Toxicology. 2001. V. 67. № 4. P. 560–567. <https://doi.org/10.1007/s00128-001-0160-5>
14. Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group (TPHCWG) series: V. 1: Analysis of petroleum hydrocarbons in environmental media. Amherst, MA, 1998. 98 p.
15. Wang Z., Yang C., Kelly-Hooper F. et al. Forensic differentiation of biogenic organic compounds from petroleum hydrocarbons in biogenic and petrogenic compounds cross-contaminated soils and sediments // Journal of Chromatography A. 2009. V. 1216. № 7. P. 1174–1191. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.12.036>
16. Frysinger G.S., Gaines R.B., Li Xu, Reddy C.M. Resolving the unresolved complex mixture in petroleum-contaminated sediments // Environmental Science and Technology. 2003. V. 37. № 8. P. 1653–1662.
17. Полякова А.А. Молекулярный масс-спектральный анализ нефтей. М.: Недра, 1973. 184 с.
18. Бродский Е.С. Масс-спектрометрический анализ углеводородов и гетероатомных соединений нефти //

- Методы исследования состава органических соединений нефти и битумов. М.: Наука, 1985. С. 57–118.
19. Бродский Е.С., Лукашенко И.М., Калинин Г.А., Савчук С.А. Идентификация нефтепродуктов в объектах окружающей среды с помощью ГЖХ и ХМС // Журнал аналитической химии. 2002. Т. 57. № 6. С. 592–596.
 20. Бродский Е.С., Шелепчиков А.А., Калинин Г.А. и др. Определение состава тяжелых и остаточных нефтепродуктов с помощью газовой хроматографии/масс-спектрометрии // Нефтехимия. 2014. Т. 54. № 1. С. 29–37.
 21. Han J., Calvin M. Hydrocarbon distribution of algae and bacteria, and microbiological activity in sediments // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1969. V. 64. № 2. P. 436–443. <https://doi.org/10.1073/pnas.64.2.436>.
 22. Немировская И.А., Хаустов А.П., Редина М.М. Распределение и генезис углеводородов в воде и осадках в акватории Керченского пролива // Геохимия. 2022. Т. 67. № 1. С. 47–56.
 23. Tolosa I., Mora S., Sheikholeslami M.R. et al. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in coastal Caspian Sea sediments // Marine Pollution Bull. 2004. V. 48. № 1–2. P. 44–60.
 24. Nishimura M., Beker E.W. Possible origin of n-alkanes with remarkable even-to-odd predominance in recent marine sediments // Geochim. Cosmochim. Acta. 1986. V. 50. № 2. P. 299–305. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(86\)90178-X](https://doi.org/10.1016/0016-7037(86)90178-X).
 25. Amodio-Cocchieri R., Cirillo T. Aliphatic hydrocarbons in biota from the Gulf of Naples (Italy) // Marine Pollution Bull. 2003. V. 46. № 3. P. 374–377. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00485-X](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00485-X).
 26. Ekpo B.O., Oyo-Ita O.E., Wehner H. Even-n-alkane/alkene predominances in surface sediments from the Calabar River, SE Niger Delta, Nigeria // Naturwissenschaften. 2005. V. 92. P. 341–346. <https://doi.org/10.1007/s00114-005-0639-8>.

ESSENCE OF OIL POLLUTION OF THE CASPIAN SEAL (*PUSA CASPICA*)

E. S. Brodsky^{a,*}, A. A. Shelepchikov^{a,b}, A. D. Kudryavtseva^a, M. A. Solovyova^a, E. Ya. Mir-Kadyrova^a, F. V. Klimov^c, V. V. Rozhnov^{a,**}

^a*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences,
Russia 119071 Moscow*

^b*All-Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed, Russia 123022 Moscow*

^c*Kazakhstan Agency of Applied Ecology, Kazakhstan 050000 Almaty*

*e-mail: efbr@mail.ru

**e-mail: rozhnov-v-2015@yandex.ru

Abstract – Petroleum products in blubber of a dead Caspian seal washed ashore were studied. It has been shown that the content of petroleum products in the adipose tissue of the Caspian seal (*Pusa (Phoca) caspica*) is relatively high, but less than the maximum values found previously. Petroleum products in seal blubber include n- and iso-alkanes, alkyl-substituted mono-, bi- and tricycloalkanes, alkylbenzenes, naphthene- and dinaphthenebenzenes, alkylnaphthalenes, and small quantities of acenaphthenes, fluorenes, phenanthrenes, naphthenophenanthrenes, fluoranthenes/pyrenes, and benzothiophenes. Aromatic compounds amount to 50% of all petroleum products, PAHs (including naphthalenes) – to 10%. The majority of aromatic compounds are represented by molecules with 3–12 C atoms in alkyl substituents, while the content of unsubstituted compounds (with the exception of phenanthrene) is relatively small. The distribution of n-alkanes with a high contribution of C₁₇, as well as the prevalence of even n-alkanes C₁₆–C₁₈ and C₂₂–C₂₄, indicates their origin from various biogenic sources. An estimate of the total content of petroleum products in Caspian seal blubber gives about 40% of all extracted compounds.

Keywords: Caspian seal, *Pusa capsica*, petroleum hydrocarbons, methods of analysis, GC/MS