

Департамент образования и науки города Севастополя
Государственное бюджетное образовательное учреждение
Центр дополнительного образования
«Малая академия наук»

**Определение нефтяных углеводородов
в рапане венозной *Rapana venosa* (Valenciennes,
1846) кутовой части Севастопольской бухты
(Чёрное море)**

Работу выполнила:

Бузовская Анастасия Игоревна,
учащаяся творческих объединений
«Биотехнологии», «Экология моря» ГБОУ
«ЦДО «Малая академия наук»; учащаяся
ГБОУ «Инженерная школа», 11 класс

Научные руководители:

Дорошенко Ю.В.,
педагог дополнительного образования
ГБОУ ЦДО «Малая академия наук»,
руководитель творческого объединения
«Биотехнологии»; к.б.н., н.с. ФИЦ
ИнБЮМ

Белогурова Р.Е.,
педагог дополнительного образования
ГБОУ ЦДО «Малая академия наук»,
руководитель творческого объединения
«Экология моря»,
м.н.с. ФИЦ ИнБЮМ

г. Севастополь, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
РАЗДЕЛ 1 ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	6
1.1 Биологическая характеристика объекта исследования.....	6
1.2 Метод газовой хроматографии.....	8
1.3 Нефтяные углеводороды в тканях гидробионтов.....	9
РАЗДЕЛ 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	11
2.1 Материал для исследований.....	11
2.2 Морфология рапаны венозной.....	12
2.3 Подготовка проб для газовой хроматографии.....	13
РАЗДЕЛ 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	14
3.1 Морфо-биологическая характеристика рапаны.....	14
3.2 Содержание нефтяных углеводородов в рапане.....	14
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	18
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	19
ПРИЛОЖЕНИЯ	22

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Повсеместное распространение в водных объектах компонентов нефти и нефтепродуктов, активное участие их в протекающих физико-химических и биохимических процессах, взаимодействие с водными организмами, обуславливает важную роль наблюдений за содержанием нефтяных компонентов при оценке состояния водных экосистем [1, 2].

Нефть не является специфическим токсикантом, поражающим какую-либо одну систему, а вызывает несогласованные изменения в содержании белков, нуклеотидов и нуклеиновых кислот, влияющих на наследственные признаки. Степень интоксикации водных животных и растений углеводородами нефти зависит от концентрации и продолжительности воздействия вещества, температуры среды, освещённости, а также пола, возраста и размера организмов [3].

Как известно, моллюски способны накапливать в своих тканях нефтяные углеводороды (НУ). Чаще всего это происходит, если район, в котором обитает тот или иной моллюск (гидробионт), является экологически загрязнённым, где происходят частые разливы нефти или выброс промышленных отходов [4]. Обычно объектом исследования накопления НУ гидробионтами становятся мидии, поскольку они являются фильтраторами и могут задерживать их в своих тканях. Также мидии являются индикаторами нефтяных загрязнений, благодаря их способности к накоплению нефтяных углеводородов, можно определить степень загрязнения района [5].

Исследования по накоплению нефтяных углеводородов гидробионтами проводились ранее, но количество работ по данной теме ограничено [6].

Представителем гидробионтов является и *Rapana venosa* (рапана венозная) – хищный брюхоногий моллюск, обитающий в Чёрном, Средиземном и Северном морях. В Чёрном море сформировалась устойчивая

популяция рапаны благодаря хорошей кормовой базе и отсутствию естественных врагов. Рапана является хищником и охотится на других моллюсков (в частности, на мидий), что способствует тому, что через пищу в неё могут попадать нефтяные углеводороды [7].

Загрязнение оказывает значительное влияние на видовой состав и численность моллюсков. Оно может вызвать снижение их плодовитости и общей продукции [7]. С другой стороны, рапана является ценным пищевым продуктом благодаря содержанию большого количества белка, витамина А, кальция и фосфора. Загрязнение нефтяными углеводородами тканей рапаны, может принести вред здоровью человека. Следовательно, данное исследование является актуальным.

Цели и задачи исследования. Целью настоящей работы является выявление способности *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) накапливать в себе нефтяные углеводороды.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить морфо-биологическую структуру моллюска рапаны кутовой части Севастопольской бухты;
2. Определить содержание нефтяных углеводородов в тканях моллюска рапаны.

Объект исследования – хищный брюхоногий моллюск *Rapana venosa*.

Предмет исследования – нефтяные углеводороды в тканях рапаны венозной.

Методы исследования. В работе применены теоретические методы (анализ изученности проблемы), методы биологического анализа, выполненные по стандартной общепринятой методике (измерение морфологических характеристик и веса моллюска, определение пола), метод газовой хроматографии, осуществленный по стандартам. Также реализованы математический и статистический подходы к обработке полученных данных.

Научная новизна полученных результатов. Впервые получены результаты исследования накопления нефтяных углеводородов в тканях рапаны кутовой части Севастопольской бухты (Чёрное море).

Практическое значение полученных результатов. Полученные данные позволят выявить способность к накоплению нефтяных углеводородов в тканях моллюска рапаны, а также оценить экологическую обстановку в кутовой части Севастопольской бухты.

Связь работы с научными программами. Научная работа выполнена в лаборатории проблем идентификации вида и отделе морской санитарной гидробиологии ФИЦ ИнБЮМ в рамках работы творческих объединений «Биотехнологии», «Экология моря».

Личный вклад учащегося. Бузовская А.И. принимала непосредственное участие в разработке темы «Определение нефтяных углеводородов в рапане венозной *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) кутовой части Севастопольской бухты (Чёрное море)». Морфологический анализ рапаны проводился учащейся самостоятельно под руководством Белогуровой Р.Е. Определение нефтяных углеводородов с помощью метода газовой хроматографии выполнено согласно рекомендациям научного руководителя Дорошенко Ю.В. и научного консультанта – вед. инженера отдела морской санитарной гидробиологии Алёмовой Татьяны Евгеньевны. Математическая и статистическая обработка массива полученных, а также интерпретация результатов выполнены лично согласно инструкциям научных руководителей.

Структура и объём работы. Научная работа изложена на 22 страницах машинописного текста, состоит из введения, 3 разделов, заключения, списка литературы, который содержит 22 источника (в том числе, 1 иностранный), и приложений. Текст работы иллюстрирован 3 таблицами, 4 рисунками.

РАЗДЕЛ 1

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1.1. Биологическая характеристика объекта исследования

Рапана венозная (*Rapana venosa*) (рис. 1) – один из самых ярких примеров глобальной экспансии гидробионтов. Изначально вид обитал в заливе Петра Великого (Дальний Восток) и у берегов Японии. В первой половине XX века рапана была занесена в Чёрное море. После того, как данный вид моллюска попал в бассейн Чёрного моря, он очень быстро распространился во многие прилегающие регионы [8].



Рис 1.1. Рапана венозная (*Rapana venosa*) [8]

Rapana venosa — это вид хищных брюхоногих моллюсков, обитающих исключительно в морской водной среде. Кормовая база рапаны: устрицы, гребешки, мелкие ракообразные, мраморный и каменный крабы, мидии, морские гребешки и другие разнообразные виды моллюсков. Молодые особи рапаны оседают на дно и первое время после появления на свет питаются планктоном [10].

Благодаря, отсутствию естественных врагов и благоприятным трофическим условиям, рапана в Чёрном море сформировала устойчивый

биоценоз. Различные экоформы рапаны могут встречаться совместно, либо быть специфичными для определённого района обитания [9].

Рапана имеет типичное для представителей данной группы морских обитателей строение. У него имеется мягкое тело и раковина, которая его защищает. Раковина сферическая, короткая, с большим завитком. Окрас варьируется от сероватого до красно-коричневого. Кроме бугорков на ракушке имеются небольшие шипы. На спиральных ребрах имеются полосы, или темные вкрапления. Изнутри раковина ярко-оранжевая. Ракушка выполняет защитную функцию и предотвращает повреждение мягкого тела моллюска [10].

Рапаны относятся к раздельнополым существам. Особи женского и мужского пола практически не имеют никаких внешне заметных отличий. В период размножения моллюски собираются в небольшие группы, численность которых достигает 20-30 особей. Период размножения приходится на вторую половину лета – конец июля, август месяц. С началом сентября численность кладок существенно снижается, и период размножения постепенно завершается.

Кладка рапаны состоит из кожистых стручковидных коконов с расширенной подошвой, у основания кокон сужается, а у вершины изгибается. Высота коконов может быть различной, от 6 до 24 мм. В каждой яйцевой капсуле содержится 200-1000 крупных яиц, диаметром 500 мкм.

Вышедшие из кокона личинки имеют двулопастный бесцветный велум. Раковина личинки коричневая, ее поверхность покрыта темными бугорками. Личинка имеет два отолита, два глазка и только одно правое щупальце. Пищеварительная система полностью сформирована и состоит из длинного пищевода, черного объемистого желудка, двух долей печени (большой и малой) и пигментированной кишки [7].

К концу первого года жизни рапаны достигают 20-40 мм. Половозрелость, утолщение раковины и образование первой нерестовой метки наступает в возрасте от двух лет, при размере от 35-78 мм. После

наступления половозрелости и утолщения раковины рост рапаны замедляется, особенно в период нереста [10].

В предыдущие годы основное использование рапаны заключалось в изготовлении сувениров из её раковины. В настоящее время мясо моллюска используется в пищу, в связи с чем осуществляется его промышленная добыча [8].

1.2. Метод газовой хроматографии

Хроматография – это метод разделения и анализа смесей веществ, а также изучения физико-химических свойств веществ. Метод был предложен в 1903 г. Михаилом Семеновичем Цветом, выдающимся русским исследователем. Первоначально свой метод М.С. Цвет назвал адсорбционным анализом (1903) и лишь через три года – хроматографическим методом (1906). Существует несколько видов хроматографии, каждый из которых имеет свой вид подвижной и стационарной фазы. Хотя основной принцип остается тем же самым, способ взаимодействия различных компонентов с подвижной фазой и стационарной фазой может варьироваться в зависимости от используемого хроматографического метода [11].

Газовая хроматография – разновидность хроматографии, метод разделения летучих компонентов, при котором подвижной фазой служит инертный газ, протекающий через неподвижную фазу с большей поверхностью.

Анализирующее соединение должно обладать такими свойствами, как: летучесть, термостабильность, инертность, легкость получения. Подвижная фаза может быть представлена: гелием, водородом, азотом, аргоном. Неподвижная фаза может быть насадочной или капиллярной [12].

Принцип действия газового хроматографа основан на разделении исследуемого образца на отдельные химические компоненты и определении их количества за счёт изменения отдельных физических параметров при

помощи детектора. Применение современных систем для хроматографического анализа обеспечивает высокую точность получаемых результатов. Основные элементы газового хроматографа представлены на рис. 1.2.

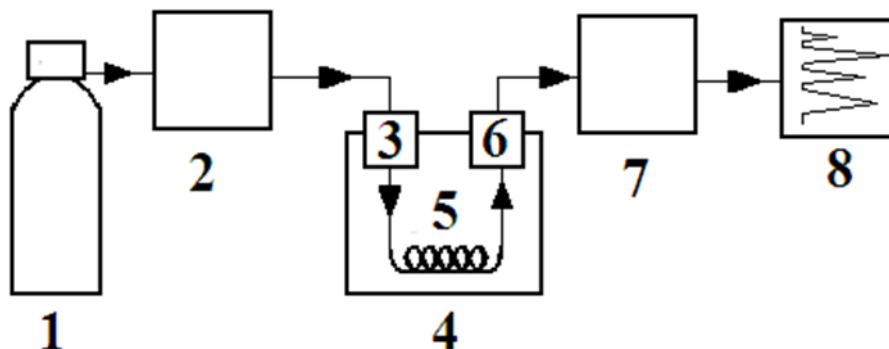


Рис. 1.2. Основные элементы газового хроматографа [12]

Условные обозначения: 1 – баллон с газом носителем, 2 – блок подготовки газов, 3 – устройство для ввода пробы, 4 – термостат, 5 – хроматографическая колонка, 6 – детектор, 7 – усилитель, 8 – регистратор.

Принцип работы газового хроматографа. Исследуемая проба подается в прибор через систему ввода. Газ-носитель вместе с анализирующим веществом поступает в хроматографическую колонку (трубка, заполненная сорбентами различного типа). Затем, колонка помещается в термостат. Это нужно для поддержания оптимального температурного давления, необходимого для взаимодействия химических веществ. Полученные разделённые компоненты поступают в детектор, который по изменению физических характеристик вещества позволяет определить количественное содержание того или иного элемента [12].

1.3. Нефтяные углеводороды в тканях гидробионтов

Нефть является сложной смесью парафиновых, циклопарафиновых, ароматических углеводородов с простыми и разветвленными цепями. Помимо этих основных составляющих, она содержит соединения серы и

азота, органические кислоты, микроэлементы. Нефти могут также содержать нафтеновые кислоты и фенольные соединения, хлороформенные битумоиды, в составе которых имеются такие экологически особо опасные соединения, как полиароматические углеводороды [13].

Нефтяные компоненты при поступлении поверхностные воды находятся в различных формах (масляная, растворенная, эмульгированная, адсорбированная). При хроническом загрязнении водотоков углеводороды накапливаются в донных отложениях на участках с замедленным течением, где активно проходят процессы илонакопления [14].

Нефтяное загрязнение влияет на различных представителей водных сообществ – начиная от растений, бактерий и простейших и заканчивая млекопитающими [15]. Это ведёт к нарушению трофических связей в экосистеме, что отражается на обилии и на состоянии популяций рыб.

Накопление, выведение и трансформация нефтяных углеводородов (НУ) у гидробионтов – довольно сложный процесс, который зависит от множества факторов. Помимо микробиальных деструкторов нефти, донные организмы также участвуют в преобразовании нефти в донных осадках [16]. Уровень накопления НУ в морских организмах, в конечном счете, определяется соотношением процессов поступления, ферментативного разложения, биосинтеза и выведения из организма [17].

Кроме мидий, существуют множество других гидробионтов способных накапливать в себе НУ, например, детритофаг – абра *Abra segmentum*, хищник нассариус – *Nassarius reticulatus* [6].

Донные беспозвоночные подвержены влиянию нефти и нефтепродуктов, которое выражается в изменении количественных и качественных характеристик донных сообществ, его структуре, причём это влияние зависит от качественного состава нефти или нефтепродуктов, их концентрации и периодичности загрязнения. Важная роль отводится донным организмам в процессах самоочищения водных объектов от данных загрязнителей [6, 16, 18].

РАЗДЕЛ 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

2.1. Материал для исследований

Материалом для исследований являются пробы, отобранные в январе, феврале, мае и октябре 2019 года на двух станциях кутовой части Севастопольской бухты (рис. 2.1.).

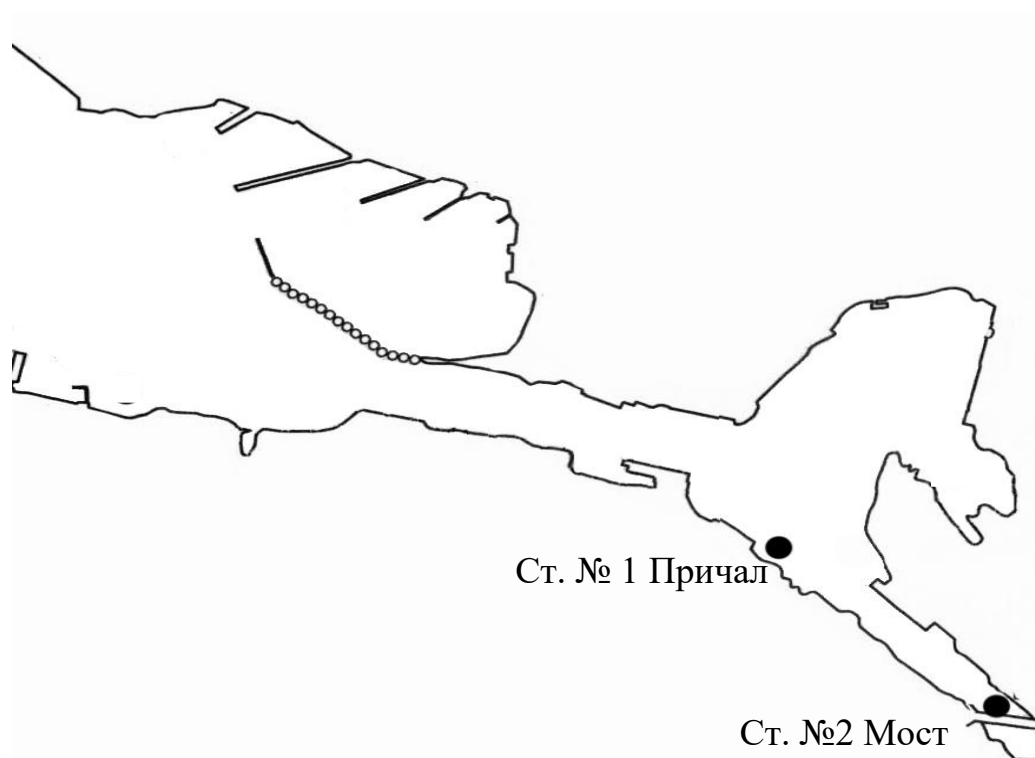


Рис. 2.1. Карта-схема отбора проб в кутовой части Севастопольской бухты

Пробы отобраны в ходе экспедиционных выходов в Севастопольскую бухту сотрудников отдела планктона на судне Ял-6. В качестве орудия лова использован буксируемый креветочный сак.

Всего на двух станциях отобрано 23 моллюска. Характеристика отобранных проб представлена в таблице 2.1.

Таблица 2.1 Характеристика отобранных проб

№	Дата	Район	Кол-во экземпляров
1	18.01.2019	станция № 2 (мост)	3
2	20.02.2019	станция № 2 (мост)	3
3	29.05.2019	станция № 2 (мост)	12
4	15.10.2019	станция № 1 (причал)	1
5	15.10.2019	станция № 2 (мост)	4

2.2. Морфология рапаны венозной

Морфологические промеры рапаны выполнялись с помощью штангенциркуля с точностью до 0,1 мм по схеме, представленной ниже (рис.2.2).

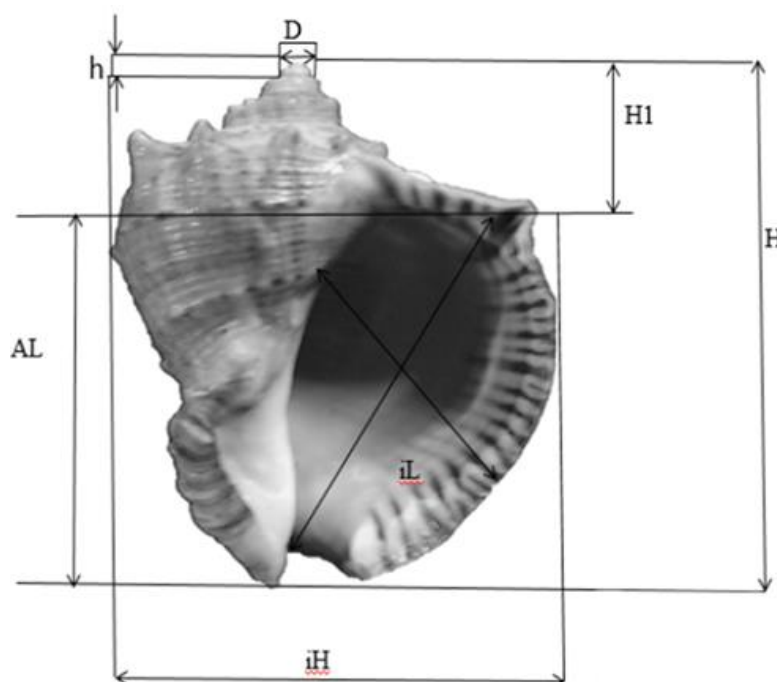


Рис 2.2. Обобщенная схема промеров турбоспиральной раковины
 H – высота раковины, iH – ширина раковины, AL – высота устья, iL – ширина устья, D – диаметр последнего оборота, h – высота последнего оборота, $H1$ – высота завитка

2.3. Подготовка проб для газовой хроматографии

Метод газовой хроматографии позволяет определить массовую долю нефтяных углеводородов в пробах гидробионтов (в частности, в рапане). Методика основана на выделении нефтяных углеводородов экстракцией гексаном, концентрировании экстракта, очистке концентрата от органических частиц с помощью оксида алюминия, отделение углеводородной фракции, элюирование НУ гексаном [3].

Условно метод подготовки проб можно разделить на 3 этапа:

I Этап (экстрагирование):

Навеску пробы (5-7 г измельченной рапаны), помещают в ёмкость для экстракции объёмом 100 см³, в коническую колбу, добавляют 20 см³ н-гексана и встряхивают 30 мин. Экстракту дают отстояться (10 мин.), после чего переносят в чистую коническую колбу. Аналогичную экстракцию проводят еще два раза и получают 60-70 см³ экстракта.

II Этап (фильтрация):

Полученный экстракт пропускают через стеклянную колонку (15 см x 1 см) с оттянутым нижним концом, заполненную оксидом алюминия, для отделения полярных соединений и концентрируют до объема 1 см³.

III Этап (ввод пробы в газовый хроматограф):

Аликвотную часть сконцентрированного экстракта (1 мкл) вводили микрошприцем в нагретый до 250°C испаритель газового хроматографа «Кристалл 5000.2» с пламенно-ионизационным детектором. Разделение углеводородов осуществляли на капиллярной колонке NT8 25 м x 0.32 мм с толщиной неподвижной фазы 0.25 мкм (SGE Analytical Science).

Для обработки результатов использовали программное обеспечение «Хроматэк Аналитик 3,0», метод абсолютной калибровки и процентной нормализации.

РАЗДЕЛ 3

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Морфо-биологическая характеристика венозной рапаны

Морфо-биологическая характеристика венозной рапаны представлена в таблице 3.1. Наиболее репрезентативна выборка рапаны со станции №2 от 29.05.2019 г., которая насчитывает 12 экземпляров. Наибольшие и наименьшие значения высоты раковины зафиксированы для моллюска именно с этой станции – 115,7 и 53,0 мм соответственно. Раковина рапаны в среднем имела бóльшую ширину (66,35 мм) у моллюска со станции №2 в пробе от 15.10.2019 г., так же, как и ширину, и высоту устья – 39,75 и 71,03 мм соответственно.

*Таблица 3.1 Морфо-биологическая характеристика *Rapana venosa**
(средние значения, мм)

Пробы	18.01.2019	20.02.2019	29.05.2019	15.10.2019	15.10.2019
Признаки	(3 шт.)	(3 шт.)	(12 шт.)	(1 шт.)	(4 шт.)
H	78,93	71,17	81,93	82,5	84,96
iH	59,73	53,47	58,68	65,5	66,35
AL	65,10	57,07	67,59	67,4	71,03
iL	35,47	29,30	36,58	39,5	39,75
D	4,03	7,50	6,79	12	9,83
h	3,43	5,07	3,73	6,2	6,53
H1	20,17	20,27	23,61	19,1	26,18

3.2. Содержание нефтяных углеводородов в рапане

Основными групповыми компонентами нефти и нефтепродуктов являются углеводороды (УВ), смолы и асфальтены. Учитывая сложность и существенное различие свойств этих компонентов, а также преобладание углеводородов в составе различных образцов нефти и нефтепродуктов,

Комиссией по унификации методов анализа природных вод стран-членов СЭВ еще в 1968 г. было принято ограничить понятие «нефтепродукты» суммой неполярных и малополярных соединений, растворимых в гексане, т.е. углеводородной фракцией [3].

Для идентификации происхождения УВ используются данные хроматографического анализа н-алканов, которые являются биологическими маркерами. Количественно дифференцировать УВ по их происхождению чрезвычайно сложно, поскольку в исследуемых пробах обычно присутствует смесь УВ из разных источников. Поэтому можно говорить только о преобладании тех или иных углеводородов, которые в зависимости от их происхождения можно разделить на 4 группы:

- нефтяные углеводороды (антропогенные сбросы с судов, сбросы промышленных сточных вод, ливневые стоки, перенос с атмосферными осадками, аварийные ситуации и др.);

- автохтонные биогенные УВ, продуцированные планктонными организмами непосредственно в водных объектах;

- аллохтонные биогенные УВ, источниками которых является растительность терригенного происхождения;

- петрогенные УВ, связанные с миграционными потоками на морском дне за счет их просачивания по разломам и трещинам из нефтегазоносных структур. По некоторым данным поступление нефти за счет просачивания оценивается в среднем в 50 % от суммарного потока нефти в Мировой океан [3].

Экспериментальные исследования показали, что гидробионты способны накапливать НУ из донных отложений, морской воды и пищевых объектов [6]. Ранее было показано, что распределение НУ в бентосных моллюсках соответствует таковому в донных осадках Севастопольской бухты [19].

Полученные результаты содержания нефтяных углеводородов представлены в виде хроматограмм, на них отображено содержание того или

иногo углеводорода (см. Приложения А-Д). Анализ полученных данных показал, что в рапане присутствуют следы парафиновых УВ (н-алканы).

После проведения анализа хроматограмм, получены результаты содержания нефтяных углеводородов в рапане (табл. 3.2).

Таблица 3.2 Концентрация нефтяных углеводородов в отобранных пробах вида *Rapana venosa* (рапана венозная)

Номер пробы	Район отбора проб	Концентрация нефтяных углеводородов в пробе (мг/100 г)
1	станция №2 (мост); 18.01.2019	2,29
2	станция №2 (мост); 20.02.2019	0,41
3	станция №2 (мост); 29.05.2019	1,46
4	станция №1 (причал); 15.10.2019	0,46
5	станция №2 (мост); 15.10.2019	0,24

В целом для пяти проб наименьшая концентрация НУ в тканях рапаны (0,24 мг/100 г) зарегистрирована для моллюска со станции №2 (мост) в октябре 2019 года, а наибольшая (2,29 мг/100 г) – для этой же станции в января 2019 года.

Ранее отмечалось, что сезонная динамика накопления углеводородов характеризуется высокими значениями в наиболее холодный период, это происходит из-за увеличения содержания липидов в организме моллюсков, что приводит к увеличению накопления нефтяных углеводородов [20, 21].

Также при сравнении двух проб с разных станций от 15 октября 2019 г. было выявлено, что концентрация НУ в тканях рапаны из станции №1 (причал) практически вдвое выше, чем из станции №2 (мост) – 0,46 мг/100 г и 0,24 мг/100 г соответственно. Поскольку станция №1 – это место локализации небольших моторных лодок, очевидно, это повлияло на концентрацию НУ в рапане из этого района.

Известно, что при разливах нефтепродуктов, наблюдаются повышенные концентрации углеводов в тканях растений и животных. Концентрация углеводов в тканях двустворчатых моллюсков (анадар и мидий), через несколько месяцев после кораблекрушения танкера «Волгонефть-139» 11 ноября 2007 г., когда произошёл разлив мазута, варьировала от 175 до 2396 мг/кг биомассы. Рапаны из штормовых выбросов на берегу Керченского пролива характеризовались содержанием углеводов 66 мг/кг, а в тканях желудка погибшей лысухи отмечена концентрация углеводов 90 мг/кг [22].

При анализе содержания углеводов в пробах биоты важнейшая задача – различить углеводороды, являющиеся продуктом метаболизма самих организмов и те, что попали в их организм из внешней среды. Для этого требуются дальнейшие исследования как самих моллюсков, так и донных осадков в местах их обитания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В кутовой части Севастопольской бухты было отобрано 23 моллюска *Rapana venosa* и определены их морфологические параметры. Наиболее репрезентативна выборка рапаны со станции №2 от 29.05.2019 г., которая насчитывает 12 экземпляров. Наибольшие и наименьшие значения высоты раковины зафиксированы для моллюска именно с этой станции – 115,7 и 53,0 мм соответственно.

В исследуемых пробах рапаны были обнаружены нефтяные углеводороды, в разных сезонах количество накопленных НУ различно. Наименьшая концентрация НУ обнаружена в моллюске, отобранном в октябре 2019 г. и составила 0,24 мг/100 г. Наибольшая концентрация в моллюске зафиксирована в январе 2019 г. (2,29 мг/100 г).

Полученные данные свидетельствуют о различной способности рапаны накапливать в себе нефтяные углеводороды. Остаётся открытым вопрос о происхождении углеводородов в исследуемых организмах и о возможности использования рапаны для биоиндикации степени загрязнения акватории. Это и станет предметом дальнейших исследований.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Постановление Правительства РФ от 9 августа 2013 г. № 681 "О государственном экологическом мониторинге и государственном фонде данных государственного экологического мониторинга.
2. NAS (National Academy of Sciences). Oil in the Sea III: Inputs, Fates, and Effects. National Research Council. Washington, D.C.: The National Academies Press, 2003. – 265 p.
3. Практическое руководство по химическому анализу элементов водных экосистем. Приоритетные токсиканты в воде, донных отложениях, гидробионтах. / Под ред. Т.О. Барабашина. – Ростов н/Д: Мини Тайп, 2018. – 436 с.
4. Миронов, О. Г.; Щекатурина, Т. Л. Опыт использования мидий в биомониторинге углеводородного загрязнения Севастопольских бухт / Состояние, перспективы улучшения и использования морской экологической системы прибрежной части Крыма: тез. науч.-практ. конф. – Севастополь. – 1983. – С. 19–20.
5. Щекатурина Т.Л., Миронов О.Г. Аккумуляция углеводородов нефти двустворчатыми моллюсками *Mytilus galloprovincialis* L. // Гидробиологический журнал. – 1987. –Т. 23. –№ 2. – С. 71–76.
6. Соловьева О.В., Тихонова Е.А. Углеводородный состав некоторых гидробионтов прибрежной акватории Севастополя // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2020. – №3. – С. 29–33.
7. Чухчин В.Д. Экология брюхоногих моллюсков Чёрного моря. – Киев: Наук думка, 1983. – 176 с.
8. https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%B7%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D1%80%D0%B0%D0%BF%D0%B0%D0%BD%D0%B0
9. Бондарев И.П. Структура популяций *Rapana venosa* Севастопольских бухт // Морской биологический журнал. – 2016. – Т. 1. – № 3. – С. 14–15.

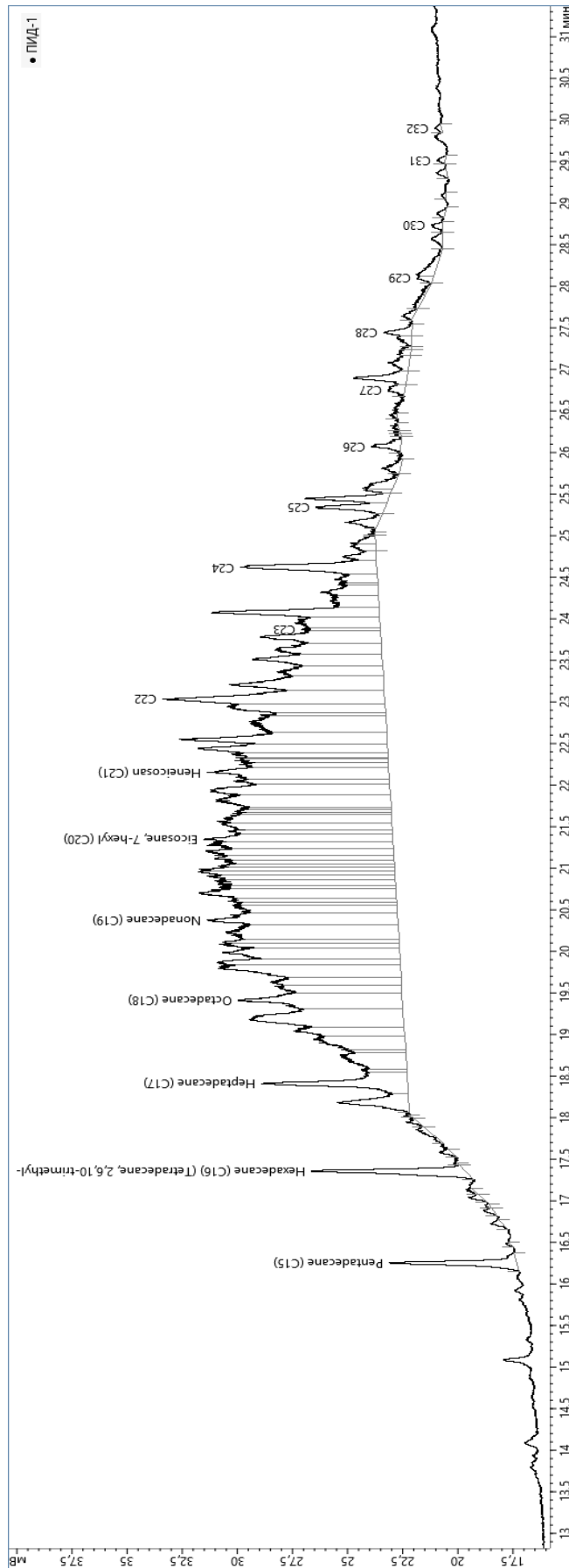
10. <https://wildfauna.ru/rapan>
11. <https://new-science.ru/chto-takoe-hromatografiya-tipy-i-primeneniya/>
12. Царев Н.И., Царев В.И., Катраков И.Б. Практическая газовая хроматография: Учебно-методическое пособие для студентов химического факультета по спецкурсу «Газохроматографические методы анализа». – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2000. – 156 с.
13. Кузин И.Л., Яковлев О.Н. Характер загрязнения окружающей среды при разведке нефтегазоконденсатных месторождений на севере Западной Сибири // Многоцелевые гидрогеохимические исследования в связи с поиском полезных ископаемых и охраной подземных вод. – Томск, 1993. – С. 82.
14. Егоров Н.Н., Шипулин Ю.К. Особенности загрязнения природных вод и грунтов нефтепродуктами // Водные ресурсы. – 1998. – Т. 25. – № 5. – С. 598–602.
15. Строганов Н.С. О механизме действия нефти и её производных на водные организмы // Токсикология загрязняемых водоёмов. – М.: Наука, 1973. – С. 189-199.
16. Воробьев Д.С. Влияние нефти и нефтепродуктов на макрозообентос // Известия Томского политехнического университета. – 2006. – Т. 309. – №3. – С. 42-45.
17. Патин С.А. Экологические проблемы освоения нефтегазовых ресурсов морского шельфа. – М.: Изд-во ВНИРО, 1997. – 349 с.
18. Дивавин И.А., Ерохин В.Е. Изменение биохимических показателей некоторых прибрежных гидробионтов Баренцева моря при экспериментальной нефтяной интоксикации // Гидробиологический журнал. – 1978. – Т. 14. – № 5. – С. 73–77.
19. Миронов О.Г. Потоки нефтяных углеводородов через морские организмы // Морской экологический журнал. – 2006. – Т. 5. – № 2. – С. 5–14.
20. Ларин А.А. Особенности определения и оценки накопления углеводородов в гидробионтах Азовского моря. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук. – 2010. – С. 22.

21. Биологические аспекты нефтяного загрязнения морской среды/ Миронов О.Г., Миловидова Н.Ю., Щекатурина Т.Л. и др.; Под общ. ред. Миронова О.Г. АН УССР Ин-т биологии юж. морей им. А.О. Ковалевского. – Киев: Наук. думка, 1988. – 248 с.

22. https://wwf.ru/upload/iblock/ffb/taman_web.pdf

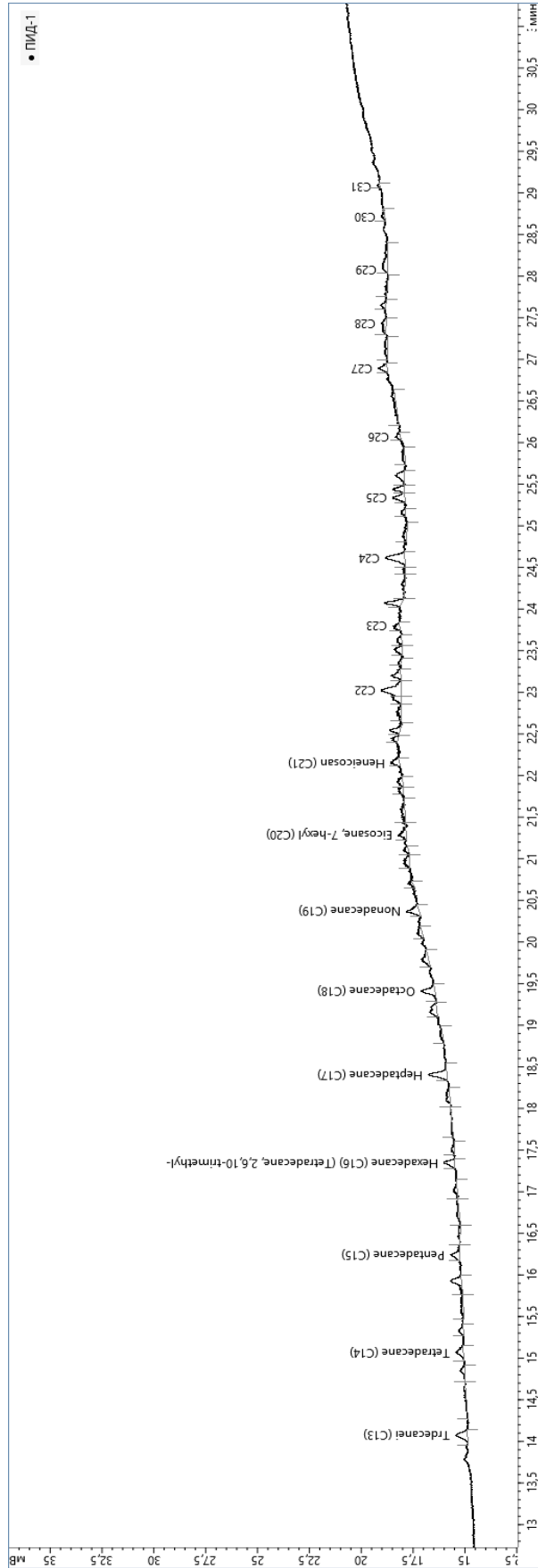
Приложение А

Содержание нефтяных углеводородов в пробе от 18.01.2019 г. ст. №2



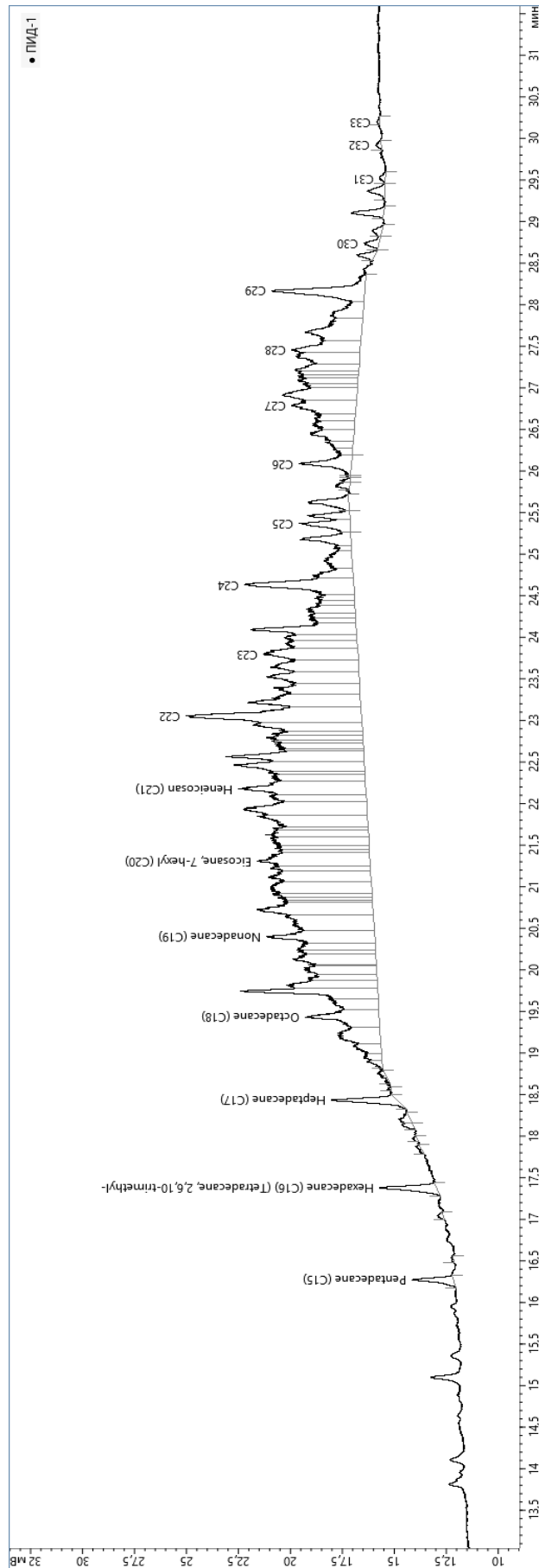
Приложение Б

Содержание нефтяных углеводородов в пробе от 20.02.2019 г. ст. №2



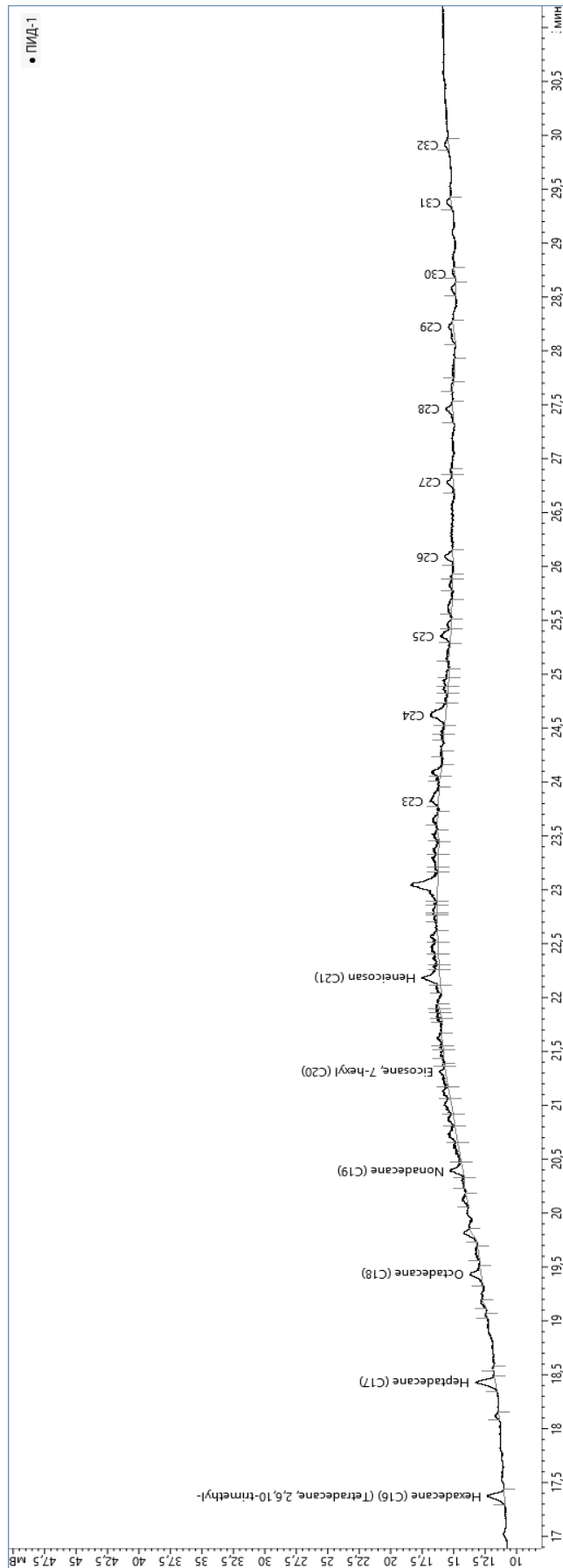
Приложение В

Содержание нефтяных углеводородов в пробе от 29.05.2019 г. ст. №2



Приложение Г

Содержание нефтяных углеводородов в пробе от 15.10.2019 г. ст. №1



Приложение Д

Содержание нефтяных углеводородов в пробе от 15.10.2019 г. ст. №2

