

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

_____ Т. Г. Волова

«___» _____ 2019 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Микробиологический мониторинг атмосферного воздуха и снежного покрова
урбанизированных территорий на примере г. Красноярска

06.04.01 Биология
06.04.01.01 Микробиология и биотехнология

Научный руководитель _____ д.б.н. С.В.Прудникова

Выпускник
ББ17-01М, 041726103 _____ С.Ю. Семёнова

Рецензент _____ к.б.н. Л.В. Мухортова

Красноярск 2019

РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация по теме «Микробиологический мониторинг атмосферного воздуха и снежного покрова урбанизированных территорий на примере г. Красноярска» содержит 57 страниц текстового документа, 16 рисунков, 2 таблицы, 46 использованных источника.

Ключевые слова: экологический мониторинг, микробиологический мониторинг, загрязнение атмосферного воздуха, микрофлора воздуха, снежный покров, урбанизированные территории.

Целью работы являлось исследование микробиологической нагрузки аэрозолей воздуха и снежного покрова урбанизированных территорий на примере г. Красноярска. В задачи исследования входило определить численность микроорганизмов, а также их таксономический состав, в атмосферном воздухе и снежном покрове в районах г. Красноярска с разной антропогенной нагрузкой. Оценить влияние интенсивности транспортного потока на численность и видовой состав микроорганизмов, а также биологическую активность микроорганизмов и их метаболический потенциал в деградации углеродсодержащих соединений.

Исследование микробиологической нагрузки воздуха и снежного покрова является актуальным, так как загрязненный воздух не только ухудшает экологические условия, но и представляет собой биологическую опасность для человека, которая возникает в результате воздействия высоких концентраций загрязняющих веществ в атмосфере, вызывая различные инфекционные и респираторные заболевания.

Исследования показали, что количество микроорганизмов в воздухе и снежном покрове увеличивается с большей интенсивностью транспортного потока, однако при наличии зеленых насаждений между местом отбора проб и проезжей частью общая численность микроорганизмов в воздухе и снежном покрове уменьшается.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	7
1.1. Экологическая ситуация в городах России.....	7
1.2. Загрязняющие вещества в атмосфере	8
1.2.1. Общие сведения	8
1.2.2. Классификация.....	9
1.2.3. Продукты сгорания углеводов	10
1.2.4. Полициклические ароматические углеводороды	13
1.3. Биоаэрозоли	13
1.4. Источники загрязнения атмосферы	15
1.4.1. Топливо	16
1.4.2. Автотранспорт.....	16
1.4.3. Предприятия	17
1.5. Действие аэрозолей на человека.....	18
1.6. Снежный покров как показатель антропогенного загрязнения	21
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	23
2.1. Характеристика районов исследования.....	23
2.2. Исследование микрофлоры атмосферного воздуха	25
2.3. Исследование микрофлоры снежного покрова.....	26
2.4. Идентификация микроорганизмов	26
2.5. Определение изотопного состава снежного покрова.....	29
2.6. Определение антибиотикорезистентности микрофлоры аэрозолей воздуха и снежного покрова	30
2.7. Определение нефтеокисляющей способности микроорганизмов воздуха и снежного покрова.....	32
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	34
3.1. Микробиологический мониторинг атмосферного воздуха в разных районах г. Красноярска.....	34
3.2. Таксономический состав микрофлоры атмосферного воздуха.. Ошибка! Закладка не определена.	

3.3. Микробиологический анализ снежного покрова в разных районах г. Красноярска	Ошибка! Закладка не определена.
3.4. Таксономический состав микрофлоры снежного покрова	Ошибка! Закладка не определена.
3.5. Метаболическая активность микрофлоры аэрозолей воздуха и снежного покрова.....	Ошибка! Закладка не определена.
3.6. Антибиотикорезистентность микрофлоры аэрозолей воздуха и снежного покрова.....	Ошибка! Закладка не определена.
3.7. Определение нефтеокисляющей способности микроорганизмов воздуха и снежного покрова.....	Ошибка! Закладка не определена.
ВЫВОДЫ.....	35
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	36

ВВЕДЕНИЕ

Среди проблем защиты окружающей среды наиболее актуальной является охрана воздушного бассейна, так как загрязненный воздух ухудшает экологические условия, приводит к преждевременному износу основных фондов промышленности, объектов жилищно-коммунального хозяйства и т.д. [1]. Биологическая опасность для человека возникает в результате воздействия высоких концентраций загрязняющих веществ в атмосфере, которые могут вызывать различные инфекционные и респираторные заболевания [45].

В качестве основных загрязнителей в воздухе обнаруживаются соединения серы, азота, тяжелые металлы, радионуклеиды, монооксид углерода, полициклические ароматические углеводороды – продукты сжигания органического материала, топлива, а также бенз(а)пирен и другие соединения, которые относятся к отравляющим веществам [36]. Как правило, центры города имеют более высокие концентрации загрязняющих веществ, чем пригороды. Они могут находиться в воздухе, осаждаться и конденсироваться в капельках воды или снега [39]. При оценке качества атмосферного воздуха в городах исследователи часто ориентируются либо на уровни загрязнения воздуха, либо на величину выбросов в атмосферу вредных веществ [9]. Однако ещё одним важным показателем является микробный состав атмосферного воздуха или микробный аэрозоль.

Микробный аэрозоль – это взвесь микробных клеток, которые адсорбируются на пылевых частицах или заключены в «капельные ядра». Чем выше концентрация загрязняющих веществ в воздухе, тем больше численность микроорганизмов, в том числе патогенных или условно-патогенных [11]. Помимо неблагоприятного воздействия на здоровье, микробная доля аэрозольных частиц (бактерий и грибов), особенно метаболически активных, может играть важную роль в образовании облаков и осадков, атмосферном окислении, деградации химических загрязнителей.

Поэтому микробиологический анализ атмосферного воздуха важен для оценки санитарно-гигиенической безопасности и качества среды обитания человека.

Целью данной работы являлось исследование микробиологической нагрузки аэрозолей воздуха и снежного покрова урбанизированных территорий на примере г. Красноярска.

В ходе работы были поставлены следующие задачи:

- Определить численность микроорганизмов в атмосферном воздухе и снежном покрове в районах г. Красноярска с разной антропогенной нагрузкой;
- Определить таксономический состав микроорганизмов, доминирующих в атмосферном воздухе и снежном покрове в разных районах г. Красноярска;
- Оценить влияние интенсивности транспортного потока на численность и видовой состав микроорганизмов;
- Оценить биологическую активность микроорганизмов и их метаболический потенциал в деградации углеродсодержащих соединений.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Экологическая ситуация в городах России

При оценке экологической ситуации в городах используют величину выбросов вредных веществ в атмосферу – промышленных (стационарных) и транспортных, т.е. показатель воздействия на природу.

Пылевые выбросы промышленных предприятий – один из основных способов поставки в окружающую среду химических элементов и их соединений. Поступление промышленной пыли в среду обитания является одной из основных причин формирования техногенных аномалий в атмосферном воздухе, снежном покрове и почвах. Оценка выбросов автотранспорта является достаточно условной – они рассчитываются по расходу топлива, без учета его качества, характеристик двигателей, автодорожной обстановки [9, 28].

Ежегодно Росгидромет составляет следующие списки городов:

- 1) с очень высоким уровнем загрязнения воздуха;
- 2) с максимально высокой концентрацией отдельных загрязняющих веществ.

В настоящее время известны основные факторы формирования экологической обстановки в городах в зависимости от их локализации, специализации и людности:

- 1) крупные выбросы промышленности и транспорта (Норильск, Новокузнецк, Москва, Екатеринбург и др.);
- 2) выбросы неидентифицированных источников загрязнения (Селенгинск, Зима и др.);
- 3) высокий естественный потенциал загрязнения атмосферы (Нерюнгри, Чита и др.);
- 4) «импорт» загрязнений из внешних источников из-за неблагоприятного эколого-географического положения (Минусинск, д. Ясная Поляна и др.).

Среди регионов России по высокому уровню загрязнения выделяются города Иркутской области (Братск, Иркутск и др.), Красноярского края

(Красноярск, Норильск, Минусинск и др.), а также Свердловской (Екатеринбург, Нижний Тагил и др.) и Челябинской (Магнитогорск, Челябинск и др.) областей. Для обеспечения качества атмосферного воздуха на уровне санитарных норм во многих российских городах вредные выбросы необходимо сократить в разы [9].

1.2. Загрязняющие вещества в атмосфере

1.2.1. Общие сведения

Рост промышленного производства сопровождается образованием большого количества различных отходов, загрязняющих окружающую среду [36]. Из-за несовершенства оборудования и технологических процессов на предприятиях в атмосферу поступают твердые частицы (пыль), мелкодисперсные капли жидкости, отходящие газы, содержащие различные по токсичности газы, пары органического происхождения [26].

Твердые частицы являются одними из главных загрязнителей, которые влияют на качество воздуха и здоровье человека [42]. Твердые частицы не только поступают в атмосферу от различных природных и техногенных источников, но и могут образовываться непосредственно в ней. Они находятся в нестабильном состоянии, однако могут перемещаться на значительные расстояния и с течением времени отделяются от воздуха, осаждаясь на подстилающие поверхности. Взвешенные в атмосферном воздухе частицы могут оказывать отрицательное воздействие на живые организмы, видимость и климат. Основными факторами, которые определяют степень этого воздействия, являются размеры и интенсивность поступления твердых частиц в атмосферу, морфология, концентрация и химический состав, а также формы нахождения связанных с ними поллютантов [28].

Воздействие выбросов усугубляется за счет специфических особенностей рассеивания поллютантов:

- 1) Использование нескольких мощных ТЭЦ, для покрытия всего энергопотребления города, приводит к тому, что при любом направлении ветра выбросы от ТЭЦ направлены в сторону города.
- 2) Расстояние, на котором достигается максимальная приземная концентрация для выбросов, составляет несколько километров, что имеет негативное воздействие на состояние атмосферного воздуха в черте города.
- 3) «Вторичные» загрязнения городов, которые образуются за счет перераспределения ранее выброшенных газовых примесей из-за смены направления ветра [23].

При сжигании углеводородных топлив, которые находятся в составе дымовых газов, имеются высокотоксичные оксиды серы и азота, монооксид углерода, несгоревшие углеводороды и продукты их неполного окисления (альдегиды, кетоны), а также твердые аэрозольные частицы, в составе которых в том числе могут присутствовать канцерогенные вещества (например, бенз(а)пирен) [4].

1.2.2. Классификация

С выбросами промышленных газов в биосферу попадает значительная часть загрязнений. Примеси атмосферного воздуха по агрегатному состоянию делятся на: жидкие, твердые, газообразные и смешанные.

Отходящие газы промышленности, содержащие взвешенные частицы (жидкие или твердые), представляют собой двухфазные системы. Сплошной фазой являются газы, дисперсной – капельки жидкости или твердые частицы. Такие аэродисперсные системы называются **аэрозолями**. Аэрозоли разделяют на пыли, дымы и туманы [8].

Пыли представляют собой аэрозоли с твердыми частицами, которые в газообразной среде являются диспергированными (тонко измельченные и равномерно распределенные) в результате механического измельчения твердых тел в порошки. Это полидисперсные малоустойчивые системы с размером частиц от 5 до 50 мкм. К ним относится, например, аспирационный

воздух, отсасываемый от пескоструйных аппаратов, транспортных устройств, дробильных, размольных и бурильных агрегатов и пр.

Дымы – это аэродисперсные системы, которые состоят из частиц с малым давлением пара и с малой скоростью седиментации (оседания). К дымам относятся аэрозоли, образующиеся при возгонке и конденсации паров, а также в результате химических и фотохимических реакций. Размер частиц от 5 до 0,1 мкм и менее.

Туманы представляют собой аэрозоли с жидкими частицами, которые образуются в результате объемной конденсации перенасыщенных паров жидкостей или при диспергировании жидкостей, в которых могут содержаться растворенные вещества или суспендированные (растворенные) твердые частицы [8, 20, 24].

1.2.3. Продукты сгорания углеводородов

Наибольший экологический ущерб атмосфере и окружающей природной среде в целом наносят такие вещества, как оксиды азота и углерода, альдегиды и формальдегиды, бенз(а)пирен и другие ароматические соединения, которые относятся к отравляющим веществам.

Диоксид серы, или сернистый ангидрид (сернистый газ)

Сернистый газ приводит к карликовости и хлорозу деревьев (пожелтение или обесцвечивание листьев). При реакции сернистого ангидрида с взвешенными частицами наблюдается наиболее опасная форма загрязнения воздуха. При этом происходит образование солей серной кислоты, которые активно загрязняют почву. Так же наличие в атмосфере сернистых газов препятствует фотосинтезу растений.

Оксиды углерода и сажа

Оксид углерода представляет собой ядовитый газ без цвета, вкуса и запаха, который образуется при сжигании твердых отходов и анаэробном разложении органики, а также при неполном сгорании древесины, ископаемого топлива. В результате деятельности человека (в том числе работа

двигателей внутреннего сгорания автомобилей) образуется около 50% угарного газа.

Двуокись углерода (CO_2) – не относится к токсичным газам, является одним из основных продуктов сгорания углеводородных топлив. Важнейшими источниками антропогенных выбросов CO_2 являются: тепловые и электрические станции (27%), отопление жилых помещений и малая энергетика (20%), промышленность (20%), транспорт (17%).

Сажа является твердым продуктом, который состоит в основном из углерода, однако содержит также 1-3 % водорода (по массе). Сажа образуется в результате пиролиза при сильном недостатке кислорода (температура выше 1500К). Большой токсичностью, чем обычная пыль, обладает сажа, которая содержится в отработавших газах. На поверхности частиц сажи могут адсорбироваться канцерогенные вещества.

Взвешенные частицы

Взвешенные частицы могут не только непосредственно содержаться в воздушной среде, но и содержаться в аэрозолях. Такие частицы содержат пыль, сажу, пыльцу, споры растений и пр., а также различаются по составу и размерам. За год примерно 100 млн. т. аэрозолей антропогенного происхождения поступает в атмосферу Земли. Около 50% частиц выбрасывается в воздух из-за неполного сгорания топлива на транспорте, заводах, фабриках и тепловых электростанциях.

Летучие органические соединения (ЛОС)

Летучие органические соединения – это ядовитые пары в атмосфере (формальдегид, бензол, толуол, хлороформ, фенолы). Значительная их часть поступает в воздух при неполном сгорании углеводородов автомобильного топлива, на химических заводах и теплоэлектростанциях.

Оказывают значительное влияние выбросы толуола, бензола, полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) и, в первую очередь, бенз(а)пирена ($\text{C}_{20}\text{H}_{12}$). При наличии в воздухе других загрязнений, токсичность газообразных низкомолекулярных углеводородов возрастает.

Оксиды азота

При сгорании топлива (температуры выше 1000 К) и избытке кислорода образуются оксид (NO) и диоксид (NO₂) азота. Токсичность NO₂ в 7 раз выше токсичности NO. Образование NO не зависит от углеводородного состава топлива и увеличивается с ростом температуры газов и концентрации кислорода. Кислоты, которые образуются при растворении оксидов азота в воде, являются одной из главных причин выпадения кислотных дождей, приводящих к гибели лесов.

Оксиды азота являются потенциальными раздражителями, которые способны увеличить риск хронических легочных заболеваний. Диоксид азота, в основном, воздействует на дыхательные пути и легкие, а также вызывает изменения состава крови (например, уменьшает содержание гемоглобина в крови). Усиливает действие канцерогенных веществ, что способствует возникновению злокачественных новообразований.

Диоксид азота раздражает слизистые оболочки дыхательных путей. К серьезному отравлению может привести вдыхание ядовитых паров диоксида азота. Диоксид азота вызывает, в том числе, сенсорные, функциональные и патологические эффекты.

Основными источниками диоксида азота в городах являются выхлопные газы автомобилей и выбросы теплоэлектростанций, а также образуется при сжигании твердых отходов.

Озон

Озон образуется при расщеплении молекулы кислорода (O₂) или диоксида азота (NO₂) с образованием атомарного кислорода (O), который затем присоединяется к другой молекуле кислорода. В этом процессе участвуют углеводороды, которые связывают молекулу оксида азота с другими веществами. При высоком содержании NO₂, O₃ и СН в малоподвижной и влажной атмосфере возникает туман коричневого цвета - смог. Озон имеет характерный запах, который и служит признаком фотохимического смога [5, 19, 23].

1.2.4. Полициклические ароматические углеводороды

Повсеместными загрязнителями окружающей среды являются полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), они образуются главным образом во время неполного сгорания органических материалов (например, угля, масла, бензина и древесины). Основными антропогенными источниками ПАУ являются выхлопы автомобилей и сигаретный дым, отопление жилых помещений, газификация угля, сажа, а также угольная смола и производство асфальта. ПАУ находятся в окружающем воздухе в газовой фазе и в виде сорбатов к аэрозолям.

Атмосферные ПАУ непрерывно осаждаются на землю в результате процессов сухого или влажного осаждения. Некоторые из них находятся непосредственно возле источников, таких как автомобильные выхлопы. Другие ПАУ из более отдаленных источников переносятся на разные расстояния по воздуху. Основным источником ПАУ в почве и снежном покрове является атмосферное осаждение.

Многие ПАУ обладают токсическими, мутагенными и/или канцерогенными свойствами. ПАУ быстро распространяются в самых разных тканях с заметной тенденцией к локализации в жировых отложениях [37].

1.3.Биоаэрозоли

Биологические частицы (биоаэрозоли) представляют собой частицы биологического происхождения, суспендированные в воздухе, такие как бактерии, грибы, вирусы, микробные токсины, белки и ферменты, а также пыльца. Частицы обычно имеют размер от 0.3 до 100 мкм, однако главное значение имеет вдыхаемая фракция от 1 до 10 мкм. Такие частицы могут быть суспендированы в воздухе как отдельные организмы, или могут быть прикреплены к частицам пыли или крошечным каплям воды. Биоаэрозоли обычно прикреплены к более крупной фракции частиц, однако грибковые споры, неагломерированные бактерии и фрагментированная пыльца также встречаются в мелкой фракции.

Биологические частицы получили меньше внимания в атмосфере, чем другие аэрозольные частицы (сульфаты, минеральная пыль и зола), так как их средняя концентрация считалась несущественной по сравнению с небиологическими частицами.

В зависимости от факторов окружающей среды и активности человека биоаэрозоли подвергаются ежедневным и сезонным изменениям [26, 39, 45, 46]. Углеводороды, NO_2 и SO_2 , а также микроэлементы могут влиять на выживание переносимых по воздуху микроорганизмов. В зависимости от источника пыли, физические, химические и биологические составы взвешенной пыли могут быть изменены. Дым содержит вредные соединения, которые могут либо убивать микроорганизмы, либо изменять их антигенные свойства. Твердые частицы могут изменить картину распространения микроорганизмов и их аэродинамические диаметры. На концентрацию и жизнеспособность микроорганизмов, а так же на изобилие аэроаллергенов может повлиять изменение климата [33]. Биоаэрозоли необходимы для распространения микроорганизмов и болезней в биосфере. Множество организмов полагаются на них для распределения и передачи генетического материала для репродуктивных целей, как в случае пыльцы растений и грибковых спор, которые также могут переноситься на большие расстояния [36, 46].

Биоаэрозоли повсеместны в атмосфере Земли и играют важную роль в биологических системах, атмосферных химических и физических процессах, а также общественном здравоохранении [34, 38, 44, 46]. От 5 до 34% загрязнения воздуха внутри помещения вызывают биоаэрозоли [46]. Биологические частицы могут также влиять на климат и гидрологический цикл, инициируя образование облаков и осадков в виде конденсации облаков и осадков [33, 36]. Концентрация в воздухе жизнеспособных микроорганизмов варьируется в зависимости от погоды. Так, например, средние концентрации жизнеспособных биоаэрозолей в туманные дни выше [42]. В работе Dong et al

(2016) показано, что в туманные дни общая концентрация бактерий увеличивается не менее чем в 1,5 раза по сравнению с ясными днями [35].

Jaenickeetal (2007) показывают, что 15-74% от общего числа аэрозолей составляют биоаэрозоли. Предполагают, что в числе концентраций жизнеспособных биоаэрозолей преобладают грибковые споры или агломерированные бактерии с аэродинамическим диаметром около 3 мкм. Также наблюдаются частицы диаметром около ~ 1,5 мкм, ~ 5 мкм и ~ 13 мкм, но менее выраженные и реже. Это могут быть отдельные бактериальные клетки, более крупные грибковые споры и пыльцевые зерна соответственно. Наблюдаемые числовые концентрации и характерные размеры биологических частиц согласуются с микроскопическими, биологическими и химическими анализами в образцах аэрозольного фильтра [36].

KaiWeietal (2015) сравнили бактериальные образцы воздуха в городах и пригородах. В городских образцах воздуха концентрация твердых частиц была выше, чем в пригородах. Род *Bacillus* доминирует в бактериальном аэрозольном сообществе в образцах воздуха (составляет более 50%)[40].

1.4.Источники загрязнения атмосферы

На степень загрязнения атмосферы непосредственно влияют как количество выбросов вредных веществ, так и их химический состав. Значительную роль также играют высота, на которой осуществляются выбросы, и климатические условия, определяющие перенос, рассеивание и превращение выбрасываемых веществ в атмосфере.

Источники загрязнения атмосферы различаются по высоте (низкие, средние и высокие) и мощности выброса (мощные, крупные, мелкие). К мелким источникам загрязнения относятся предприятия местной и пищевой промышленности, небольшие котельные, трубы печного отопления и т.п. К мощным источникам загрязнения – производства заводов строительных материалов, химических и металлургических заводов, тепловые электростанции и др. [20, 21,27].

1.4.1. Топливо

При сжигании топлива образуется множество вредных веществ: оксид углерода, сернистые соединения, оксиды азота и несгоревшие твердые вещества в виде сажи и золы. При сжигании различных видов топлива (твердого и жидкого) в меньшем количестве могут выбрасываться хлористый магний и натрий, оксиды железа, ванадий, оксиды никеля и кальция, ртуть и ряд других веществ. При сжигании газообразного топлива в основном выбрасываются оксиды азота. При сжигании газа в условиях недостаточного количества воздуха или при охлаждении пламени горелки, т.е. при нарушении режима горения, в атмосферу выбрасываются углеводороды и ароматические углеводороды, часть которых является канцерогенными веществами [21].

К источникам загрязнения атмосферы дымовыми газами относятся практически все тепловые двигатели и установки, которые сжигают углеводородное топливо. Углеводородное топливо поставляется в зону горения все химические вещества, соединения и элементы, которые содержатся в его составе.

Жидкое топливо дополнительно вносит в зону горения серу и элементы, содержащиеся в механических примесях (ванадий, железо, кальций, натрий и др.) и в присадках (магний, марганец, свинец и др.). Твердое топливо также добавляет к этим элементам примеси, которые могут включать алюминий, барий, кадмий, мышьяк, ртуть, сурьму, фосфор и другие элементы [5, 19].

1.4.2. Автотранспорт

Значительное количество топлива сжигается разными видами транспорта: автомобильным, железнодорожным, морским, речным и авиационным [21].

В настоящее время больше половины всех вредных выбросов в окружающую среду, которые являются главным источником загрязнения, особенно в крупных городах, приходится на долю автомобильного

транспорта. В среднем, при пробеге 15 тыс. км за год каждый автомобиль сжигает 2 т топлива и около 26-30 т воздуха, в том числе 4,5 т кислорода, что в 50 раз больше потребностей человека. При этом в атмосферу выбрасывается (кг/год): угарный газ – 700, диоксид азота – 40, несгоревшие углеводороды – 230 и твердых веществ – 2-5.

Вредные вещества поступают в воздух с отработавшими и картерными газами, испарениями из топливных систем, а так же при заправке. На выбросы оксида углерода большое влияние оказывает как режим движения автомашины, так и рельеф дороги. Например, при ускорении и торможении содержание оксида углерода в отработавших газах увеличивается почти в 8 раз (минимальное количество – при скорости 60 км/ч). В связи с тем, что учитывая, что отработавшие газы автомобилей поступают в нижний слой атмосферы, значительная часть вредных веществ находится в зоне дыхания человека [10].

1.4.3. Предприятия

Одним из основных путей поступления в окружающую среду тяжелых металлов и других химических элементов являются пылевые выбросы промышленных предприятий. Формирование зон техногенного загрязнения в атмосферном воздухе, почвах и снежном покрове в значительной мере обусловлено поступлением в среду обитания промышленной пыли [29].

Предприятия черной металлургии вносят большой вклад в загрязнение атмосферы. Выбросы предприятий этой отрасли достигают 10-15 % общих выбросов промышленности в целом. Такие выбросы содержат пыль, оксид углерода, диоксид серы, оксиды азота, фенол, сероводород, сероуглерод, бенз(а)пирен и др.

При производстве цветных металлов в атмосферу выбрасываются оксиды металлов (главным образом свинец, никель и медь), диоксид серы, оксид углерода и пыль. Производство алюминия электролизным методом сопровождается выбросами в атмосферу оксида углерода и фтористых соединений.

Предприятия химической промышленности выбрасывают в атмосферу разнообразные вредные вещества, в основном в виде газов. При производстве серной кислоты с отходящими газами в атмосферу поступают оксиды азота, сернистые соединения и соединения мышьяка, а также токсичная пыль. При производстве азотной кислоты - оксиды азота, оксид углерода и аммиак, при производстве хлора – соляная кислота и хлор. При производстве целлюлозы и бумаги – сероуглерод, сероводород, диоксид серы, дисульфид, хлор, формальдегид и меркаптаны; искусственного волокна – сероуглерод и сероводород.

Предприятиями нефтяной промышленности выбрасывается в атмосферу значительное количество вредных веществ, в том числе оксиды азота и серы, углеводороды, оксид углерода, сероводород, меркаптаны и несгоревшие твердые частицы, содержащие бенз(а)пирен. С выбросами из печей обжига пыли и диоксида серы связано производство цемента. Предприятия по производству белковых концентратов выбрасывают в атмосферу фурфурол и пыль белково-витаминных концентратов [21].

1.5. Действие аэрозолей на человека

Воздействие биоаэрозолей на здоровье человека (в том числе инфекционные заболевания, острые токсические эффекты, аллергия и рак) приводит к повышению осведомленности о большом воздействии аэрозолей. Биологическая опасность для человека возникает в результате воздействия высоких концентраций биоаэрозолей или их незнакомых форм. Основные группы заболеваний, которые связаны с воздействием биоаэрозолей – инфекционные заболевания, респираторные заболевания и рак [46].

Основными параметрами, которые определяют воздействие аэрозольных частиц на окружающую среду и здоровье человека являются размер, структура, химический состав, а так же их концентрация. Эти параметры сильно варьируются как временно, так и пространственно [44].

Различают негативное воздействие пыли на человека в условиях окружающей природной среды, в производственных условиях и в быту. Гигиеническая опасность промышленной пыли, взвешенной в атмосферном воздухе, определяется ее размерами (и формой) частиц, количеством, а также уровнями содержания в них различных токсикантов. В большинстве случаев наиболее опасно профессиональное влияние пыли.

Пыль в производственных условиях может приводить к развитию профессиональных заболеваний (пылевых бронхитов, бронхиальной астмы, дерматозов, пневмокониозов и др.), увеличивать заболевания других органов дыхания (пневмония, пневмосклероз, туберкулез, эмфизема легких и др.), оказывать непосредственное токсическое воздействие на людей. Некоторые виды пыли могут обладать различными свойствами: например, канцерогенным действием или адсорбционными свойствами, за счет чего пылинки способны нести на себе молекулы газов, которые могут быть причиной интоксикации. Пыль также является носителем спор, микробов, яиц гельминтов. Быстро растворяющаяся пыль достаточно неплохо выводится из организма, а также оказывает сравнительно слабое патологическое действие. Однако плохо растворимая пыль имеет более выраженное действие, за счет того, что надолго задерживается в дыхательных путях. Многие виды промышленной пыли являются сильными аллергенами [25, 28].

Пребывание в сильно запыленной среде, при котором большое количество пыли попадает в организм, представляет большую опасность для человека. При длительном нахождении в условиях относительно большой массы пыли, она контактирует со слизистой поверхностью дыхательных путей, которая наиболее восприимчива к ее действию. В верхних дыхательных путях задерживаются крупные частицы пыли и со временем удаляются со слизью. Более мелкие частицы пыли при вдыхании глубже проникают в дыхательную систему, проходят в легкие и, оседая на длительный срок, вызывают поражение легочной ткани.

Частицы пыли затрудняют функции сальных и потовых желез, проникая и закупоривая их поры. При этом попавшие в протоки сальных желез микробы могут развиваться, вызывая пиодермию - гнойничковые заболевания кожи. Также может быть затруднена терморегуляция в случае закупорки потовых желез пылью.

Конъюнктивит (воспалительный процесс слизистых оболочек) вызывает пыль, попавшая в глаза. Действие пыли также вызывает раздражение верхних дыхательных путей их воспаление.

Вызывать разрастание соединительной ткани вокруг каждой пылинки, которая не способна воспринимать кислород из вдыхаемого воздуха, могут нетоксичные пыли, находясь длительное время в легких. Как правило такой процесс протекает годами. Однако при длительной работе в условиях высокой запыленности, соединительная ткань разрастается и постепенно замещает легочную, снижая основную функцию легких, усвоение кислорода и выделение углекислоты [10].

Некоторые полициклические ароматические углеводороды (например, нафталин, бенз(а)пирен, бенз(а)атрацени другие) хорошо известны как канцерогены, мутагены и тератогены, что представляет серьезную опасность для здоровья и благополучия человека. Повышенный риск развития рака легких является наиболее значительным эффектом для здоровья от ингаляционного воздействия. Так, в домах, которые расположены рядом с большой дорогой (до 10 м), жители болеют раком в 3-4 раза чаще, чем в домах, удаленных от дороги на расстояние 50 м.

Транспорт оказывает влияние в том числе на растения, почву и водоемы. Например, некоторые сельскохозяйственные культуры, такие как рожь и пшеница, могут поглощать ПАУ через воду, почву и воздух [10, 37].

1.6. Снежный покров как показатель антропогенного загрязнения

Снежный покров является показателем зимних загрязнений. В нем отражается существующее загрязнение атмосферного воздуха, а также последствия хозяйственной деятельности человека. Снег является депонирующей природной средой, за счет того, что обладает высокой сорбционной способностью, а также поглощает из атмосферы газовые и пылевые массы.

Снежный покров является удобным индикатором загрязнения атмосферных осадков, атмосферного воздуха, а также загрязнения воды и почв большого города за продолжительный зимний период в результате таяния снега. При образовании и выпадении снега, а также в результате процессов его сухого и влажного вымывания, концентрация загрязняющих веществ в снежном покрове оказывается на два-три порядка выше, чем в атмосферном воздухе.

Весной, при снеготаянии, снежный покров отдает в окружающую среду загрязняющие вещества, которые были накоплены за определенный период. Эти вещества могут перемещаться с талыми водами на значительное расстояние от мест их выпадения.

На количество взвешенных частиц в снежном покрове влияют не только промышленные выбросы предприятий и транспорта, но и «подсыпка» дорог коммунальными службами гравием, песком и технической солью в зимний период.

Состав снежного покрова изменяется в зависимости от источника загрязнения. Например, повышенное содержание серы наблюдается возле железных дорог, котельных, работающих на угле, большого потока автотранспорта, работающего на дизельном топливе, а также ряда специфических промышленных предприятий. К антропогенным источникам содержания соединений азота относятся: автотранспорт,

теплоэнергетика, промышленные предприятия. Информативным является показатель величины рН снеговых вод. В обычном (незагрязненном) состоянии он изменяется от 5.5 до 5.8. Вблизи ТЭЦ, котельных и металлургических заводов рН снега имеет более высокие значения, что вероятнее всего связано с выпадением зольных частиц, которые содержат соединения гидрокарбонатов калия, кальция, магния.

Влияние города на загрязненность снежного покрова – это только часть локального воздействия урбанизации на окружающую среду. С помощью исследования этой проблемы можно создать представление лишь об одном из фрагментов антропогенного загрязнения окружающей среды [3, 6, 7, 12, 13, 14].

Снежный покров содержит информацию не только о химических веществах, но и в том числе о биотических компонентах. Снег является временным местообитанием для микробиоты и неблагоприятен для ее размножения.

Существует определенная замкнутость потока микробиоты в условиях городской среды – после таяния снега микроорганизмы вновь попадают в почву. При этом необходимо учитывать, что в снежном покрове могут концентрироваться и патогенные микроорганизмы – возбудители заболеваний человека и животных. В том числе, в течение зимы могут быть обнаружены мало культивируемые бактерии, чем можно объяснить характер заболеваний, возникающих зимой. А это значит, что снежный покров представляет собой эпидемическую опасность, так как в нем сохраняется жизнеспособность микроорганизмов [15, 41].

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Характеристика районов исследования

Для отбора воздуха в 2017 году было определено 8 точек в городе Красноярске (ул. М. Годенко, ул. Ак.Киренского, парк Троя, пр. Свободный, ТК на Свободном, Академгородок, СФУ, ул. Авиаторов). Отбор проб проводили в период сентябрь-ноябрь 2017 г.

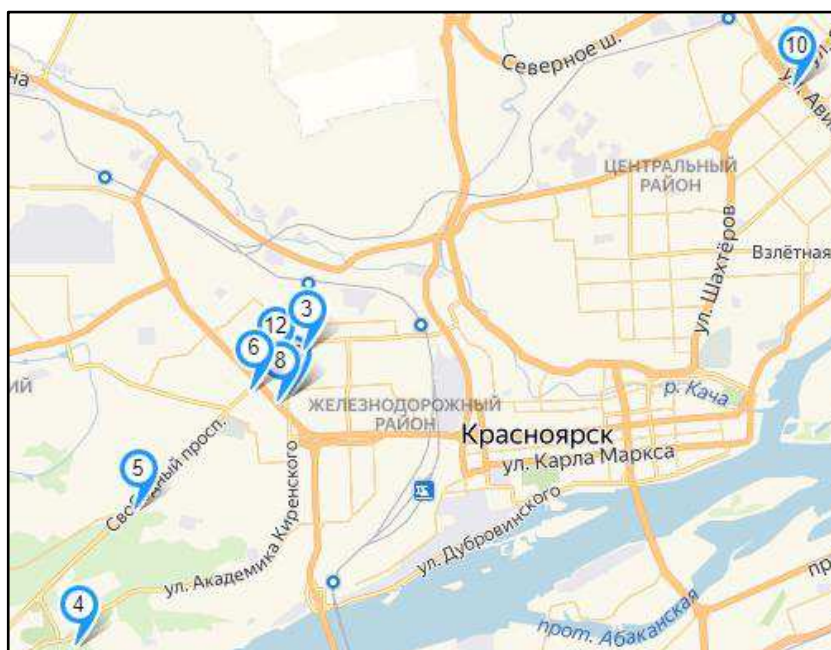


Рисунок 1 – Места отбора проб в 2017 году¹ (3 – парк Троя, 4 – Академгородок, 5 – СФУ, 6 – пр.Свободный, 8 – ул. М. Годенко; 10 – ул. Авиаторов, 12 – ТК на Свободном, 13 – ул. Ак. Киренского)

Точки 3, 4, 5, 6, 8, 12, 13 находятся в Октябрьском районе, точка 10 – в Советском районе. Точки 3, 4 и 5 характеризуются низким уровнем загрязнения, и наличием зеленых массивов. Точки 6 и 8 характеризуются транспортным потоком слабой интенсивности. Точки 10, 12 и 13 высоким уровнем загрязнения, а также интенсивным транспортным потоком.

Для отбора воздуха в 2018 году было определено 14 точек (трасса М53, ул. Копылова, ул М. Годенко, ул. Ак. Киренского, парк Троя, пр. Свободный, ТК на Свободном, ул. Карбышева, Академгородок, СФУ, ул. Авиаторов, ул.

¹ Карты созданы с помощью Конструктора карт Яндекс.

Аэровокзальная, пр. им. Газеты Красноярский рабочий). Были добавлены точки отбора проб в Октябрьском, Железнодорожном, Советском и Ленинском районах. Контрольная точка находилась за пределами города недалеко от аэропорта Красноярск (Емельяново). Отбор проб проводили в периоды май-июль и сентябрь-ноябрь 2018 г.



Рисунок 2 – Места отбора проб в 2018 году (1 – аэропорт Красноярск, 2 – трасса М53, 3 – парк Троя, 4 – Академгородок, 5 – СФУ, 6 – пр.Свободный, 7 – ул. Аэровокзальная, 8 – ул. М. Годенко, 9 – ул. Им. Д. М. Карбышева, 10 – ул. Авиаторов, 11 – пр. им. Газеты Красноярский Рабочий, 12 – ТК на Свободном, 13 – ул. Ак.Киренского, 14 – ул. Копылова)

Точки 1 и 2 находятся за пределами г. Красноярска, недалеко от лесных массивов и имеют низкий уровень загрязнения. Точки 3, 4, 5, 6, 8, 9, 12, 13 находятся в Октябрьском районе и характеризуются разной антропогенной нагрузкой и различной интенсивностью транспортного потока. Точки 7 и 10 – в Советском районе, 11 – Ленинский район (в районе цирка), 14 – Железнодорожный район. Точки 7 и 9 характеризуются низкой антропогенной нагрузкой. Точки 11, 14 – высоким уровнем загрязнения, а также интенсивным транспортным потоком.

2.2. Исследование микрофлоры атмосферного воздуха

Исследование воздуха проводили с помощью седиментационного метода (метод Омелянского). Этот метод основан на способности микроорганизмов оседать на поверхность твердой питательной среды в чашке Петри, в силу тяжести и под влиянием движения воздуха вместе с частицами пыли и капельками влаги. Для посева чашку Петри открывали в точке отбора пробы и оставляли на 20 минут. Отбор проводили в 3-х повторностях. По окончании экспозиции чашки помещали в термостат, после чего проводили подсчет выросших колоний. Бактерии учитывали на мясопептонноагаре (HiMedia, Индия) через 3-5 суток культивирования при 30 °С. Дрожжи и мицелиальные грибы учитывали на агаре Сабура (HiMedia, Индия) через 7-10 суток культивирования при 25 °С.

Общее микробное число воздуха рассчитывали по формуле В.Л. Омелянского, соответственно которой на поверхность площадью 100 см² в течение 5 мин оседает столько микробов, сколько их содержится в 10 дм³ воздуха. Количество микроорганизмов (X) в 1 м³ воздуха рассчитывали так:

$$X = \frac{A \times 5 \times 100 \times 1000}{C \times 10 \times S}$$

X – количество микроорганизмов в 1 м³ воздуха;

A – количество колоний в чашке Петри;

S – площадь чашки Петри;

C – время экспозиции (20 минут).

2.3. Исследование микрофлоры снежного покрова

Отбор снежного покрова проводили в период ноябрь-мартв 2018 и 2019 году. Для отбора было определено 14 точек в разных районах города Красноярск: Аэропорт Красноярск, Трасса М53, ул. Копылова, ул. М. Годенко, ул. Ак. Киренского, парк Троя, пр. Свободный, ТК на Свободном, ул. Карбышева, Академгородок, СФУ, ул. Авиаторов, ул. Аэровокзальная, пр. им. Газеты Красноярский Рабочий (рис. 2). Контрольная точка находилась за пределами города, в районе аэропорта Красноярск (Емельяново).

Фоновые участки (точки 1-5) выбирали на территориях, не подвергающихся загрязнению или испытывающих его в минимальной степени [38].

Для отбора снега, снегомер врезали на всю толщину снежного покрова, после чего керн снега собирали в контейнеры. Отобранный снег растапливали в лаборатории при комнатной температуре. Определение параметров загрязнения проводили путем анализа одной сборной пробы с каждой точки. Посев проводили в 3-х кратной повторности.

Для анализа снежного покрова использовали общепринятые микробиологические методы. Учет бактерий проводили, высевая пробы снега на питательную среду PlateCountAgar (HiMedia, Индия), учет дрожжевых и мицелиальных грибов проводили на агареСабура(HiMedia, Индия).

2.4. Идентификация микроорганизмов

Идентификацию чистых культур выделенных микроскопических грибов проводили по микро- и макроморфологическим признакам (цвет колоний, структура, строение органов спороношения и т.д.), приведенным в определителях [Саттон, Ватанабе].Микроскопический анализ колоний проводили с использованием микроскопа AxioStar (CarlZeiss).

При идентификации бактерий проводили сравнительный анализкультуральных, морфологических, биохимических свойств.

Определяли грампринадлежность, морфологию вегетативных клеток, спорообразование, каталазную, оксидазную, амилазную, протеазную, липазную и лецитиназную активность; образование кислоты из сахарозы, лактозы, глюкозы, мальтозы и маннитола.

Принадлежность изучаемых культур к группе грамотрицательных или грамположительных бактерий определяли экспресс-методом Грезерсена в капле 3%-го раствора КОН.

Для выявления каталазной активности на суспензию клеток на предметном стекле наносили каплю 3% раствора пероксида водорода (H_2O_2). При положительной реакции наблюдали выделение O_2 , которое хорошо заметно по образованию пузырьков газа.

Оксидазную активность выделенных изолятов бактерий определяли с помощью тест-полосок окситест (MIKRO-LA-TEST).

Для выявления амилолитической активности использовали среду, в состав которой входит (г/л): пептон – 10.0; KH_2PO_4 – 5.0; растворимый крахмал - 2.0; агар – 15.0; pH среды 6.8 – 7.0. Среду стерилизовали при температуре 121°C 30 минут, после чего разлили в стерильные чашки Петри. Исследуемые микроорганизмы высевали штрихом по диаметру чашки. Продолжительность культивирования составила 7 суток, при температуре 30°C. Гидролиз крахмала обнаруживали после обработки агаровой поверхности раствором Люголя, для чего на поверхность среды наливали 3-5 мл раствора Люголя, после этого среда окрашивалась в синий цвет, а зоны гидролиза крахмала приобретали красно-бурую окраску.

Для изучения протеолитической активности культуры высевали на мясопептонную желатину (МПЖ). Для этого к 100 мл мясопептонного бульона (МПБ) добавили 15 г желатины, оставили на 15 минут, чтобы она набухла, затем нагрели на водяной бане до полного растворения желатины и разлили в пробирки по 10 мл. Стерилизовали при температуре 121°C 15 минут. Посев проводили уколом. Продолжительность культивирования

составила 10 суток при комнатной температуре. Разжижение желатины отмечали визуально.

Обнаружение ферментов лецитиназы и липазы проводили на желточноагаре. В состав желточного агара входит (г/л): пептон – 10, Na_2HPO_4 – 2.5, NaCl – 2.0, MgSO_4 – 0.05, Глюкоза – 0.1, Агар – 20 г. Среду стерилизовали в автоклаве при 121°C в течение 25 минут, затем остужали до $45\text{-}50^\circ\text{C}$. В остывший агар вносили асептически желточную взвесь (желток, размешанный в 100 мл стерильного физиологического раствора). Желточный агар разливали по чашкам и засеивали культурой бактерий штрихом через центр чашки. После инкубации снимали крышку и осматривали поверхность колоний при косом освещении. При положительной липазной реакции вокруг колонии наблюдали маслянистый слой; при положительной лецитиназной реакции под колониями образовывалась непрозрачная зона помутнения.

Способность исследуемых культур ферментировать углеводы изучали на универсальных средах Гисса. Среды имеют следующий состав: панкреатический гидролизат кильки, индикатор и углеводы (глюкоза, сахароза, лактоза, мальтоза, манит). Для приготовления сред, 15 грамм препарата размешивали в 1 литре дистиллированной воды и кипятили до полного растворения. Затем разливали в стерильные пробирки. Засев проводили уколом, культивировали в течение 3 дней. Образование газа и кислоты отмечали визуально.

Идентификацию микроорганизмов проводили методом МАЛДИ времяпролетной масс-спектрометрии с использованием MALDI-TOF масс-спектрометра Microflex («BrukerDaltonics», Германия) по технологии, рекомендованной производителем. Исследуемые бактерии в чистой суточной культуре снимали одноразовой петлей с поверхности скошенного агара и наносили на лунки стального планшета для MALDI-TOF масс-спектрометрии. Затем на образцы наносили по 2 мкл насыщенного раствора матрицы – α -СНСА в растворе, содержащем 50% ацетонитрила и 2,5% трифторуксусной кислоты. Планшет с содержимым высушивали на

воздухе до образования кристаллов в течение 5 минут. В качестве контрольного образца, а также в качестве внешнего калибратора использовался экстракт штамма *E. coli* DH5a.

Для получения каждого масс-спектра использовали 50 импульсов лазера с мощностью излучения, установленной на уровне минимального порогового значения, достаточного для десорбции-ионизации образца. Параметры масс-спектрометра оптимизировали для диапазона m/z (отношение массы к заряду) от 2000 до 20 000. Внутреннюю калибровку указанного диапазона проводили с использованием точных значений масс известных белков *E. coli*. Образец наносили на три ячейки планшета, для каждой из которых записывали спектр, полученный в результате суммирования 10 одиночных спектров (500 импульсов лазера). Для записи, обработки и анализа масс-спектров использовали программное обеспечение фирмы «BrukerDaltonics» (Германия): flexControl 2.4 (Build 38). Идентификация бактерий проводилась автоматически, с использованием программного обеспечения.

2.5. Определение изотопного состава снежного покрова

Для отбора снега, снегомер врезали на всю толщину снежного покрова, после чего керн снега собирали в воздухонепроницаемые контейнеры и растапливали при комнатной температуре. Определение параметров загрязнения проводили путем анализа одной сборной пробы с одной точки.

Для определения изотопного состава снежного покрова использовали газовый анализатор Picarro2201-i (PicarroInc., США). С помощью газового анализатора, в образцах снега была определена концентрация метана, а также изотопный состав углерода.



Рисунок 3 – Газовый анализатор Picarro 2201-i

2.6. Определение антибиотикорезистентности микрофлоры аэрозолей воздуха и снежного покрова

Исследование чувствительности бактерий к антибиотикам проводили диско-диффузионным методом на среде Мюллера-Хинтона. В состав среды входят (г/л): мясной экстракт – 2,0; гидролизат казеина – 17,5; кукурузный крахмал – 1,5; агар – 17,0; вода дистиллированная. Среду стерилизовали при 121°С в течение 15 минут. Суспензию испытуемого микроорганизма растирали стерильным тампоном по поверхности среды. Затем на поверхность среды укладывали бумажные диски, пропитанные определенной концентрацией антибиотика. После инкубирования в течение 24 часов при 30°С измеряли диаметр зон, образовавшихся вокруг дисков.

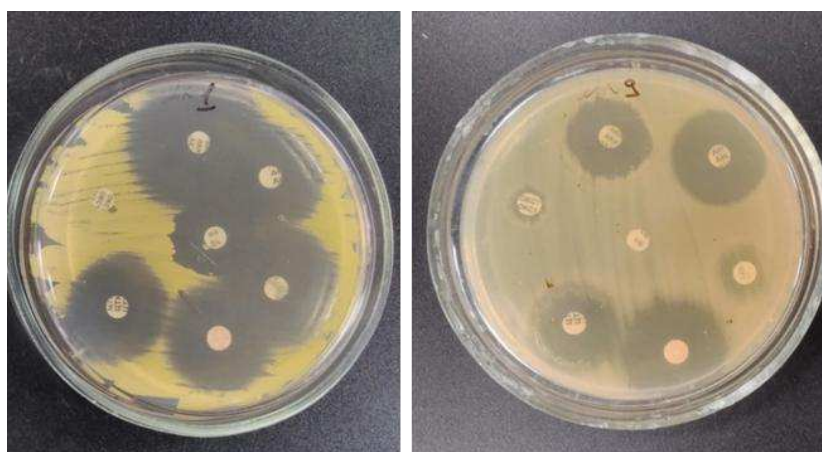


Рисунок 4 – Исследование чувствительности бактерий к антибиотикам

Для определения антибиотикорезистентности были использованы стандартные индикаторные диски с антибиотиками (ЗАО "НИЦФ", Россия): ампициллин+сульбактам (30 мкг); амикацин(30 мкг); амоксициллин + клавулановая кислота(20/10 мкг); ванкомицин(30 мкг); гентамицин (120 мкг); оксациллин (1 мкг); цефотаксим(30 мкг).

Ампициллин+сульбактам –бактерицидный антибиотик широкого спектра действия. Блокирует синтез пептидогликана клеточной стенки микроорганизмов. Действующим началом является ампициллин – полусинтетический пенициллиновый антибиотик широкого спектра действия, который разрушается бета-лактамазами. Сульбактам ингибирует бета-лактамазы, и действует на продуцирующие бета-лактамазы (устойчивые) штаммы. Активен в отношении большинства грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Неэффективен в отношении пенициллиназопродуцирующих штаммов.

Амикацин– полусинтетический бактерицидный антибиотик группы аминогликозидов. Антибиотик широкого спектра действия. Связываясь с 30S субъединицей рибосом, препятствует образованию комплекса транспортной и матричной РНК, блокирует синтез белка и разрушает цитоплазматические мембраны бактерий. Высокоактивен в отношении аэробных грамотрицательных микроорганизмов, некоторых грамположительных микроорганизмов. Не активен в отношении анаэробных микроорганизмов.

Амоксициллин/клавулановая кислота – комбинированное антибактериальное средство. Сочетает бактерицидный антибиотик широкого спектра действия, из группы полусинтетических пенициллинов – Амоксициллина и ингибитор бета-лактамазклавулановую кислоту. Действует бактерицидно, угнетает синтез бактериальной стенки. Амоксициллин в сочетании с клавулановой кислотой активен в отношении аэробных грамположительных бактерий (включая штаммы, продуцирующие бета-лактамазы), анаэробных грамположительных бактерий, аэробных грамотрицательных бактерий (включая штаммы, продуцирующие бета-

лактамазы), анаэробных грамотрицательных бактерий (включая штаммы, продуцирующие бета-лактамазы).

Ванкомицин— антибиотик из группы трициклических гликопептидов. Механизм бактерицидного действия обусловлен ингибированием биосинтеза клеточной стенки. Ванкомицин активен в отношении грамположительных микроорганизмов. Неактивен *in vitro* в отношении грамотрицательных микроорганизмов, микобактерий и грибов.

Гентамицин – антибиотик аминогликозидного ряда широкого спектра действия, подавляет бактериальный синтез белка. Высокоактивен по отношению к аэробным грамотрицательным бактериям, а также в отношении аэробных положительных кокков. Гентамицины продуцируются бактериями *Micromonospora*, промышленный продуцент — *Micromonospora purpurea*.

Оксациллин – бета-лактамный антибиотик узкого спектра действия из пенициллинового класса. Не разрушается в слабокислой среде. Устойчив к действию бета-лактамаз (пенициллиназ). Активен в отношении грамположительных микроорганизмов. Не эффективен в отношении большинства грамотрицательных микроорганизмов, риккетсий, вирусов, простейших, грибов.

Цефотаксим – полусинтетический антибиотик группы цефалоспоринов III поколения. Имеет широкий спектр действия. Эффективен в отношении многих грамположительных бактерий, обладает высокой активностью к грамотрицательным бактериям. Бактерицидно влияет на штаммы бактерий, стойких к пенициллину, сульфаниламидам, аминогликозидам.

2.7. Определение нефтеокисляющей способности микроорганизмов воздуха и снежного покрова

Исследование способности бактерий использовать углеводороды нефти определяли на минеральном агаре с добавлением стерильной нефти. Минеральная среда содержит (г/л): NaNO_3 – 3,0; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; KCl – 0,5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01; агар – 20 г, вода

водопроводная. Среду стерилизовали при 121°C 15 минут. Стерильную среду разливали в чашки Петри, после застывания среды наносили 200 мкл стерильной нефти в каждую чашку и засеивали культурой бактерий штрихом через центр чашки. Продолжительность инкубации составила 7-10 суток. После инкубации осматривали поверхность на образование колоний. При положительной реакции наблюдался рост микроорганизмов.



Рисунок 5 – Определение нефтеокисляющей способности бактерий

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Микробиологический мониторинг атмосферного воздуха в разных районах г. Красноярск

По данным Федеральной службы по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (Росгидромет), осенью 2017 года не зафиксирован высокий уровень загрязнения атмосферного воздуха, однако в целом в 2017 году уровень загрязнения атмосферного воздуха г. Красноярск характеризовался как «очень высокий». Основной вклад в уровень загрязнения атмосферы города внесли бенз(а)пирен, формальдегид, взвешенные вещества, диоксид азота и аммиак [17, 30].

Изъято 17 страниц

ВЫВОДЫ

1. Количество микроорганизмов в воздухе и снежном покрове увеличивается в районах г. Красноярска с интенсивным движением транспорта в 4-6 раз по сравнению с районами, где транспортная нагрузка ниже.
2. Общая численность микроорганизмов в воздухе уменьшается в 2-5 раз при наличии зеленых насаждений между местом отбора проб и проезжей частью.
3. Таксономический состав доминирующих бактерий атмосферного воздуха представлен видами родов: *Actinomyces*, *Bacillus*, *Kocuria* и *Micrococcus*. Бактериальное сообщество снежного покрова представлено видами родов *Actinomyces*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Kocuria*, *Pantoea*, *Pseudomonas*. Среди мицелиальных грибов в воздухе и в снежном покрове встречались *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*.
4. Соотношение изотопов углерода в снежном покрове указывает на метанотрофную активность микрофлоры в районах с лесными массивами. Выявлена большая доля биогенного углерода C^{12} в составе CO_2 в экологически благоприятных районах города, тогда как в районах с интенсивным движением транспорта наблюдали утяжеление изотопного состава углерода, что указывает на техногенное загрязнение.
5. В воздухе и снежном покрове были выявлены штаммы бактерий, обладающих резистентностью к некоторым антибиотикам (амикацин, ампицилин/сульбактам, амоксициллин/клавуланат, ванкомицин, гентамицин, оксациллин, цефотаксим), в том числе широкого спектра действия.
6. Для 73% всех изолятов установлено наличие способности к использованию углеводов нефти в качестве субстрата.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Алиев, Г. М-А. Техника пылеулавливания и очистки промышленных газов: справ.изд. / Г.М.-А. Алиев. – М.: Металлургия, 1986. – 544 с.
2. Апанасенко, И. П. Антропогенные загрязнения атмосферы и пути их минимизации для формирования здоровья населения / И. П. Апанасенко, Н. И. Антипин // Вестник Полоцкого Государственного университета. – 2014. – №7. – с. 147-150.
3. Василенко, В.Н. Мониторинг загрязнения снежного покрова / В. Н. Василенко, Н. М. Назаров. – Л., 1985. – 256 с.
4. Горячкин, А. В. Влияние содержания влаги в зоне горения на эмиссию оксидов азота и серы / А. В. Горячкин // Научные работы. Техногенная безопасность. – 2004.
5. Даценко, И.И. Воздушная среда и здоровье / И. И. Даценко. – Львов, 1981. – 148 с.
6. Демиденко, Г.А. Оценка антропогенного загрязнения снежного покрова левобережья г. Красноярска / Г. А. Демиденко, Д. С. Владимирова // Вестник КрасГАУ. – 2014. – №2. – с. 120-124.
7. Демиденко, Г. А. Оценка загрязнения снежного покрова в городе Красноярске / Г. А. Демиденко, Н. С. Напесочный // Вестник ОмГАУ. – 2016. – № 2. – с. 115-120.
8. Дерябин, В. А. Очистка запыленного воздуха и рассеивание примесей промышленных выбросов. Учебное электронное текстовое издание / В. А. Дерябин, С. Г. Власова, Е. П. Фарафонтова // ГОУ ВПО «Уральский государственный технический университет – УПИ». – 2006.
9. Ключев, Н.Н. «Грязные» города России: факторы, определяющие загрязнение атмосферного воздуха / Н. Н. Ключев, Л. М. Яковенко // Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. – 2018. – № 26 (2). – с. 237-250.
10. Краецкая, О.Ф. Экология промышленных технологий. Конспект лекций / О. Ф. Краецкая, И. Н. Прокопья. – Минск. – 2014.

11. Кузнецова, А.В. Микробиологический мониторинг атмосферного воздуха г. Волгограда / А. В. Кузнецова, И. В. Владимцева // Вестник Волгоградского государственного университета. Серия 3: Экономика. Экология. – 2011. – Т. 3. – №. 2. – с. 267-270
12. Кузьмин, П.П. Процесс таяния снежного покрова / П. П. Кузьмин. – Л., 1981. – 345 с.
13. Лобанов, А.И. Экологическая ситуация в г. Красноярске на 2011 г. / А. И. Лобанов, Н.Н. Морозова // Разработка механизмов взаимодействия различных субъектов городского сообщества для обеспечения экологической безопасности городской среды: материалы науч. практич. семинара. – Красноярск, 2011. – 119 с.
14. Напрасникова, Е. В. Особенности геохимического и микробиологического состояния снежного покрова Иркутска/ Е. В. Напрасникова // Сибирский медицинский журнал . – 2007. – №3. – с. 74-76.
15. Напрасникова, Е.В. Снежный покров в оценке экологического состояния городской среды / Е. В. Напрасникова, А. П. Макарова.
16. Нетрусов, А. И. Практикум по микробиологии : учебное пособие для студ. высш. учеб.заведений / А. И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук; под ред. А. И. Нетрусова. – Москва: Академия, 2005. – Т. 608.
17. Обзор состояния и загрязнения окружающей среды в Российской Федерации за 2017 год // Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (Росгидромет). – 2018. – 206 с.
18. Определитель бактерий Берджи. В 2 томах / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. Пер. с англ. под ред. Г.А. Заварзина. – Москва : Мир, 1997. – 800 с.
19. Пинигин, М.А. Охрана атмосферного воздуха / М. А, Пинигин. – М., 1989. – 236 с.
20. Рекомендации по проектированию очистки воздуха от пыли в системах вытяжной вентиляции // Центральный Научно-исследовательский и


- проектно-экспериментальный институт промышленных зданий и сооружений (ЦНИИПРОМЗДАНИЙ) ГОССТРОЯ СССР
- 21.РД 52.04.186-89. Руководство по контролю загрязнения атмосферы
- 22.Саттон, Д.Определитель патогенных и условно патогенных грибов / Д. Саттон, А. Фотергилл., М. Ринальди. – Изд. Мир, 2001.
23. Силаева, П.Ю.Особенности рассеивания выбросов диоксида азота предприятиямиэнергокомплекса и их влияние на население мегаполисов / П. Ю. Силаева, А. В. Силаев //Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. – 2018. – № 26. – с. 63-72.
- 24.Скворцов, Д. И. Экологические аспекты очистки исходящих газов при сжигании ТБО на Мусоросжигательном заводе №2 / Д. И. Скворцов //V Международная студенческая электронная научная конференция «Студенческий научный форум». - 2013.
- 25.Справочник по профессиональной патологии / под ред. Л. Н. Грацианской. – Л: Медицина, 1981. – 376 с.
- 26.Сугак,Е.В.Очисткапромышленныхгазовотгазообразныхдисперсныхпримесей / Е, В. Сугак, Н.А. Войнов, Р. А. Степень, Н. Ю. Житкова//Химиярастительного сырья. – 1998. – №3. – с. 21-34.
- 27.Суркова, И. В. Антропогенное загрязнение атмосферного воздуха – причина экологически обусловленной заболеваемости населения / И. В. Суркова//Современные тенденции развития науки и технологий. – 2016. – №3-1. – с. 74-83.
- 28.Янин, Е.П. Промышленная пыль в городской среде (геохимические особенности и экологическая оценка) / Е. П. Янин. – М.: ИМГРЭ, 2003 – 82 с.
- 29.Янин, Е.П. Роль промышленной пыли в формировании общего состава и физико-химических свойств городских почв / Е. П. Янин //Экологическая экспертиза. – 2015. – №3. – с. 53-76.

30. Состояние загрязнения атмосферного воздуха на территории городов Красноярского края, республики Хакасия и Тыва. ФГБУ «Среднесибирское УГМС». Режим доступа: <http://meteo.4line.ru/>
31. Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (Росгидромет). Краткая справка об аварийном, высоком и экстремально высоком загрязнении окружающей среды, а так же радиационной обстановке на территории деятельности ФГБУ «Среднесибирское УГМС». Режим доступа: <http://meteo.4line.ru/>
32. Состояние загрязнения атмосферного воздуха на территории городов Красноярского края, республики Хакасия и Тыва (февраль 2019). ФГБУ «Среднесибирское УГМС». Режим доступа: <http://meteo.4line.ru/>
33. Alghamdi, M. A. Microorganisms associated particulate matter: A preliminary study / M. A. Alghamdi, M. Shamy, M. A. Redal, M. Khoder, A. H. Awad, S. Elserougy // Science of the Total Environment. – 479-480. – с. 109-116.
34. Cox, C. S. Bioaerosols handbook / C. S. Cox, C. M. Wathes. – Lewis, Boca Raton. – 1995.
35. Dong, L. J. Concentration and size distribution of total airborne microbes in hazy and foggy weather / L. J. Dong, C. Shao, X. Zhong, D. Gao, W. Cao, J. Gao, R. Bai, G. Long, C. Chu // Science of the Total Environment. – 2016. – 541. – с. 1011-1018.
36. Huffman, J. A. Fluorescent biological aerosol particle concentrations and size distributions measured with an Ultraviolet Aerodynamic Particle Sizer (UV-APS) in Central Europe / J. A. Huffman, B. Treutlein, U. Poschl // Atmospheric, Chemistry and Physics. – 2009. – №10. – с. 3215-3233.
37. Hussein, I. A-Sh. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation / I. A-Sh. Hussein, M. S. M. Mansour // Egyptian Journal of Petroleum. – 2015. – Т. 25. – № 1. – с. 107-123.

38. Jaenicke, R. Omnipresence of biological material in the atmosphere / R. Jaenicke, S. Matthias-Maser, S. Gruber // *Environmental Chemistry*. – 2007. – № 4. – с. 217–220.
39. Jones, A.M. The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations / A. M. Jones, R. M. Harrison // *Science of The Total Environment*. – 2004. – № 326. – с. 151-180.
40. Wei, K. Microbial aerosol characteristics in highly polluted and nearpristine environments featuring different climatic conditions / K. Wei, Y. Zheng, J. Li, F. Shen, Zh. Zou, H. Fan, X. Li, Ch.-yu Wu, M. Yao // *Science Bulletin*. – 2015. – 60 (16). – с. 1439-1447.
41. Lee, B.U. Concentration of culturable bioaerosols during winter / B.U. Lee, G. Lee, K. J. Heo // *Journal of Aerosol Science*. – 2016. – 94. – с. 1-8.
42. Li, Y. Concentrations and size distributions of viable bioaerosols under various weather conditions in a typical semi-arid city of Northwest China / Y. Li, R. Lu, W. Li, Zh. Xie, Y. Song // *Journal of Aerosol Science*. – 2017. – № 106. – с. 83-92.
43. Mansour, A. A. Microorganisms associated particulate matter: A preliminary study / A.A. Mansour, M. Shamy, M. A. Redal, M. Khoder, A. H. Awad, S. Elserougy // *Science of The Total Environment*. – 2014. – 479-480. – с. 109-116.
44. Pöschl, U. Atmospheric Aerosols: Composition, Transformation, Climate and Health Effect / U. Pöschl // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2005. – 44(46). – с. 7520-40.
45. Rossi, V. Patterns of airborne conidia of *Stemphylium vesicarium*, the causal agent of brown spot disease of pears, in relation to weather conditions / V. Rossi, R. Bugiani, S. Giosué, P. Natali // *Aerobiologia*. – 2005. – № 21.
46. Srikanth, P. Bio-aerosols in indoor environment: Composition, health effects and analysis / P. Srikanth, S. Sudharsanam, R. Steinberg // *Indian Journal of Medical Microbiology*. – 2008. – 26 (4). – с. 302-312.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

 Т. Г. Волова

« 5 » июня 2019 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Микробиологический мониторинг атмосферного воздуха и снежного покрова
урбанизированных территорий на примере г. Красноярска

06.04.01 Биология
06.04.01.01 Микробиология и биотехнология

Научный руководитель



д.б.н.

С.В. Прудникова

Выпускник

ББ17-01М, 041726103



С.Ю. Семёнова

Рецензент



к.б.н.

Л.В. Мухортова

Красноярск 2019