

## NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

ISSN 2224-5286

Volume 5, Number 425 (2017), 65 – 72

**M.K. Kazankapova<sup>1\*</sup>, M.K. Nauryzbayev<sup>2</sup>, B.T. Ermagambet<sup>1</sup>, S.A. Efremov<sup>2</sup>, W. Braida<sup>3</sup>**<sup>1</sup>LLP «Institute of coal chemistry and technology», Astana, Kazakhstan;<sup>2</sup>Al-Farabi Kazakh national university, The Center of Physical-Chemical methods of research and analysis, Almaty, Kazakhstan;<sup>3</sup>Stevens Institute of Technology, Center for Environmental Systems, Hoboken, USAE-mail: [coaltech@bk.ru](mailto:coaltech@bk.ru)**RESEARCH OF BIOREMEDIATION OF OIL-CONTAMINATED SOILS USING MICROORGANISMS IMMOBILIZED ON SCHUNGITE SORBENTS**

**Abstract.** Bioremediation of oil-polluted natural objects using oil degrading microorganisms immobilized on schungite sorbents was investigated in laboratory conditions. The data of microorganisms isolated from soil contaminated by oil sludge, which accumulate in reservoirs of the Almaty region are presented for the first time. The isolated active strains of microorganisms were screened and identified (*Pantoea vagans*, *Pantoea ananatis*). Immobilization of oil degrading bacteria cells on shungite sorbents from Kazakhstan (“Bakyrchik” field) and Russia (“Zazhogino” field) was studied. Sorption and destructive activity of bacteria strains was investigated. The results of chromatographic analysis and IR spectroscopy confirm that microorganisms (*Pantoea vagans*, *Pantoea ananatis*) provide effective adsorption-biological soil purification from oil.

**Key words:** Immobilization, adsorption, biosorbent, microorganism, schungite, oil.

ӘОЖ: 34.27.39:34.27.51:70.25.17

**М.К. Қазанқалова<sup>1\*</sup>, М.К. Наурызбаев<sup>2</sup>, Б.Т. Ермағамбет<sup>1</sup>, С.А. Ефремов<sup>2</sup>, В. Брайда<sup>1</sup>**<sup>1</sup>«Көмір химиясы және технология институты» ЖШС, Астана қ., Қазақстан;<sup>2</sup>Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Физика-химиялық зерттеу және талдау орталығы, Алматы қ., Қазақстан;<sup>3</sup>Стивенс Технологиялық институты, Экологиялық жүйелер орталығы, Хобокен қ., АҚШ**МИКРОАҒЗАЛАРМЕН ИММОБИЛИЗДЕНГЕН ШУНГИТ СОРБЕНТТЕРІН ҚОЛДАНУ АРҚЫЛЫ МҰНАЙМЕН ЛАСТАНҒАН ТОПЫРАҚТЫҢ БИОРЕМЕДИАЦИЯСЫН ЗЕРТТЕУ**

**Аннотация.** Зертханалық жағдайда мұнай тотықтырғыш микроағзалармен иммобилизацияланған шунгит сорбенттерін қолдану арқылы мұнаймен ластанған топырақтың биоремедиациясы жүргізілді. Алматы облысының шлам жинақтаушы қоймасындағы мұнаймен ластанған топырағынан бөлініп алынған микроағзалар жайлы алғаш рет мәлімет берілді. Бөлінген активті микроағза штамдарына скрининг және идентификация жасалды (*Pantoea vagans*, *Pantoea ananatis*). Мұнай тотықтырғыш бактерия клеткаларының Қазақстан («Бақыршық» кен орны) және Ресей («Загогино кен орны) шунгит сорбенттеріне иммобилизациясы қаралды. Микроағза штамдарының сорбциялық және ыдырату белсенділіктері зерттелді. Хроматографиялық және ИҚ-спектроскопиялық талдау нәтижелері негізінде, мұнаймен ластанған топыраққа енгізілген микроағза-деструкторлардың көрсетілген түрлерінің (*Pantoea vagans*, *Pantoea ananatis*) топырақ құрамындағы мұнай өнімдерін белсенді түрде адсорбционды-биологиялық тұрғыдан тазартатыны анықталды.

**Тірек сөздер:** иммобилизация, адсорбция, биосорбент, микроағза, шунгит, мұнай.

**Кіріспе.** Ғаламдық мәселелердің бірі – су және топырақ қабатының мұнай және мұнай өнімдерімен ластануы, ал мұнаймен ластанған объектілерді қалпына келтірудің жаңа технологияларын жасап шығару және жетілдіру басым бағыттардың бірі. Мұнай өндіруші және мұнай өңдеуші өнеркәсіптер Қазақстан экономикасының басты құраушыларының бірі болып табылады. Олардың орналасқан аймақтарында жер асты және жер үсті суларының, топырақтың мұнай өнімдерімен, беттік белсенді заттармен, әртүрлі химиялық реагенттермен ластануы салдарынан химиялық және микробиологиялық құрамдарының өзгеруі адам мен жануарлар әлемінің өмір сүру ортасына қауіп туғызуда [1]. Мұнай көмірсутектерінің өзгерісі кезінде микробиологиялық ыдырауға тұрақты, қауіпті канцерогенді және мутагенді қасиеттерге ие уытты қосылыстар түзілуі мүмкін [2].

Мамандардың пайымдауы бойынша, мұнай өнеркәсібінде өндірілетін мұнайдың барлық көлемінің 3,5 %-ы жоғалады, соның ішіндегі ластағыш заттардың айтарлықтай үлкен бөлігі – 75 %-ға дейін атмосфераға, 20%-ы – су көздеріне және 5%-ы – топыраққа түседі. Құбырлардағы апатты жою кезінде қолданылатын әдістердің бірқатары экологиялық қауіпті одан әрі өршітеді. Қазіргі таңда мұнай төгінділерін тазартудың негізгі әдісі механикалық жинау, бірқатар жағдайда сорбенттерді қолдану арқылы соңында жағу, болмаса құм немесе торфпен көму әдістері жиі қолданылады. Нәтижесінде аймақ уытты және канцерогенді жану өнімдерімен ластанады. Жандыру (әсіресе топырақ бетінде) қоршаған ортаны тазартудың ең қауіпті түрі болып табылады, өйткені мұнайдың толық жанбауының нәтижесінде тұрақты канцерогенді заттар пайда болып, олар көп аймаққа тарап, өсімдік пен жануарлар қауымдастығының қоректік тізбегіне түсіп, нәтижесінде жергілікті тұрғындарда онкологиялық аурулардың пайда болуына әкеледі.

Тұрмыстық, шаруашылық қызмет нәтижесінде топырақтың мұнай және мұнай өнімдерімен ластануы қоршаған ортаға әсер ететін маңызды факторлардың бірі. Топырақ жабыныландырудың негізгі элементі - «экологиялық соққыны» ең бірінші болып қабылдайды. Механикалық бұзылу мен химиялық ластануға байланысты мұнай-газ кешендерінің негізгі экологиялық мәселелерінің бірі топырақтың біртіндеп деградациялануы. Мұнай өнімдері топырақтың жоғары адсорбциялық қабілетіне байланысты ұзақ уақыт топырақта сақталынады, осы арқылы оның физика-химиялық және биологиялық қасиеттерін өзгертеді. Мұнаймен ластану микробиологиялық және биохимиялық үрдістерді басады, биоценоз құрылымын, топырақ түзу үрдістерінің активтілігінің өзгеруін туындатады [3,4]. Табиғатқа мұнай және газ құбырларындағы апаттар айтарлықтай залал тигізеді. Осылайша, мұнай құбырының бір жарылысында орташа есеппен 2 т мұнай төгіледі, бұл 1000 м<sup>3</sup> жерді жарамсыз етеді, ал газконденсат құбырындағы апат нәтижесінде 2 млн. т/жылына мұнай төгіледі. Мұнайдың апаттық төгінділері техногенді шөлдердің қалыптасуына әкеледі, көптеген зерттеушілердің пікірі бойынша олардың өздігінен қалпына келу үрдісі 15-25 жылға созылады [5-8].

Айтарлықтай бұзылған жерлер құрғап, тақырлар пайда болады, сортаңдану үдерістері жоғарылайды. Техногенді-бұзылған топырақтардың гранулометриялық құрамы туралы мәліметтер шаңданудың жоғары дәрежесін, гумус горизонтының шаңды-лайлы құрамын және топырақтың карбонатталу дәрежесінің артқанын айғақтайды. Мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақтың химиялық талдауының нәтижелері бойынша мұнаймен ластанған топырақта азотты нитрат 1,5-2,0 есе аз жинақталатыны, топырақ суының рН-ы және топырақ фермент белсенділігінің қарқындылығы төмендейді. Осылайша мұнай топыраққа түсе отырып, кейде қайтымсыз өзгерістерге әкеледі, бұл ретте жағымсыз табиғи үдерістер: топырақ эрозиясы, дефляция, криогенез күшейеді [9].

Қазіргі таңда мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған объектілерді тазартудың негізгі әдісі ретінде төгілген мұнайды механикалық немесе физика-химиялық жолмен тазалап, топырақтағы қалған мөлшерін мұнай тотықтырғыш микроағзаларды қолдану арқылы биоыдыратуға негізделген биологиялық тазалауды айтуға болады. Алайда бүгінгі таңдағы биопрепараттар әртүрлі өңірлердің топырақ-климаттық жағдайларына байланысты қажетті белсенділік көрсете алмай отыр, сондықтан өте үлкен көлемді мұнай төгінділерін тазартуда абorigенді штамдарды іздеп, бөліп алу және жаңа препараттар жасау қажеттілігі туындайды.

Қазіргі таңда мұнай ластағыштарын жоюдың биодеструктивті және сорбциялық әдістерінің жетістіктерін біріктіретін биосорбенттерді қолдануға негізделген жаңа, жоғары эффективті

технологияларға ерекеше көңіл бөлінуде. Биодеструктивті сорбенттер адсорбцияланған мұнай ластағыштарын биологиялық жолмен ыдыратады. Нәтижесінде ластағышты эффективті түрде тазалайды. Табиғи жағдайларда микроағзалардың көпшілігі топырақтың минералды бөліктеріне, көл, өзен, теңіздің тереңдік шөгінділеріне, өсімдіктің тамырының жерге бекіну аймақтарында тіршілік етеді, көбейеді және әртүрлі биологиялық белсенділік көрсетеді. Сондықтан ластанған сулы ортаға енгізілген микроағза – ыдыратушылардың дамуына оңтайлы жағдай жасау және олардың сол ортада ұзақ уақыт бойы тіршілік етуін қамтамасыз ету үшін алдын ала ыдырамайтын тасымалдаушыларда жасушалардың иммобилизациясы қолданады.

Бірқатар көміртекті материалдарды (микроағза тасымалдаушы) алудың көзі ретінде Қазақстанда өндірістік дәрежеде пайдалануға қоры жеткілікті шунгит жыныстарын қолдануға болады. Қазақстан шикізатының жаңа көміртекті материалдарды алудың фундаменталды және технологиялық негіздерін жасаудың маңыздылығы жоғары. Технологияның талаптарын қанағаттандыратын және алдын ала қасиетке ие тасымалдағыш-микробты жасуша жұбын таңдау арқылы әртүрлі ластағыштардан топырақ және су объектілерін тазалау үрдістерінде қолданылатын жоғары эффективті биосорбенттерді алуға болады. Экожүйенің техногенді ластануын шешуге, сонымен қатар оларды тазалайтын биосорбенттерді жасауға бағытталған жұмыстың тақырыбы өзекті болып табылады.

**Тәжірибе.** Зерттеудің нысаны ретінде «Бақыршық» (Қазақстан) және «Захогино» (Ресей) кен орындарынан алынған шунгит жыныстары; Алматы облысының шламынан бөлініп алынған микроағза штамдары: *Sh-3 (Pantoea vagans)*, *Sh-4 (Pantoea ananatis)* қолданылды.

ДНҚ KateWilson әдісімен бөлініп алынды [10]. ДНҚ концентрациясы спектрофотометриялық әдіс арқылы NanoDrop спетрофотометрінде 260 нм толқын ұзындығында зерттелді, сонымен қатар электрофоретикалық әдіспен ДНҚ сапасы бағаланды.

Шунгит көміртеқминералды сорбентті көбікті флотация әдісімен байытылған шунгит концентратынан алынды. Сорбенттер (шунгит) 1г өлшеп алынып сыйымдылығы 250 мл колбаларға орналастырылды. 100 мл дистилденген су қосылып 1атм.қысымда 30 мин стерилденді. Стерилизация аяқталған соң сорбенттерді құрғақ массасы алынғанша кептірілді. Микроағзалар биомассасын алу үшін температура мен қоректік орта құрамы оптималды болуы тиіс [11]. Микроағзалар биомассасын суспензия түрінде алу үшін оларды 30°C температурада 24 сағат культивирленді. Қоректік ортада өскен клеткалардың үстіне физиологиялық ерітінді құйып, шпатель көмегімен биомасса алынды.

Алынған клеткаларды центрифугаға (5000 айн/мин, 6 минут, 3 рет) орналастырылды. Супернатты төгіп, қалған массаны стерильді колбаға ауыстырады. Сол жерге физиологиялық ерітінді құйылады, UNICO спектрофотометрінде толқын ұзындығы 670 нм, 0,8-1,0 аралығында клеткалар тығыздығы өлшенді. 10 мл суспензияны тасымалдағышпен араластырады, бөлме температурасында 220 айн/мин шейкерге 24 сағатқа қойып, әр 1, 3, 5, 7, 10, 20 және 24 сағат сайын суспензия тығыздығын өлшеуге сынама алынып отырылды.

Зертханалық жағдайда мұнаймен ластанған топырақ мұнайотықтырғыш жасушасы бар суспензиямен және биосорбенттермен өңделіп, бір ай бойы органикалық бөліктің құрамында болған өзгерістер бақыланды. Мұнай ыдырауына аборигенді (топырақ құрамындағы) және енгізілген микрофлораның қатысуын дұрыс бағалау үшін тәжірибелер стерилді және стерилді емес орталарда жүргізілді. Зертханалық зертеулерде анализ үшін топырақ үлгілері тәжірибенің басында және соңында алынды.

Көмірсуларды анықтау келесі құралдарда іс жүзіне асырылды: масс-спектралды детекторы бар газды хроматограф Agilent 6890 N, ИҚ – спектрометр FT-IR.

**Нәтижелер және оларды талқылау.** Мұнай тотықтыратын микроағзалардың белсенді штамдарын дайындау үшін Алматы облысының шлам жинақтаушы қоймасындағы мұнаймен ластанған топырақтың микрофлорасына зерттеу жүргізілді. Алынған культуралардың ішінде мұнай шикізатын ыдыратуға 2 штамм қабілеттілік көрсетті. Бөлінген белсенді ыдыратушы штамдардың генетикалық идентификациясы Ұлттық Биотехнология Орталығында жүргізілді. 1-кестеде штамдардың атаулары мен олардың алыну көздері және ДНҚ концентрация мәндері келтірілген.

Кесте 1 - Альну көздері мен ДНК концентрациялары

Үлгі	Штамм	Алынған көзі	Концентрация ng/ul	260/280
1	<i>Sh-3</i>	шлам	176	2,03
2	<i>Sh-4</i>	шлам	229,6	2,05

ДНК бөлу негізінде жоғары сапалы және концентрациялы ДНК үлгілері алынды. Идентификация нәтижелері 2-кестеде келтірілген.

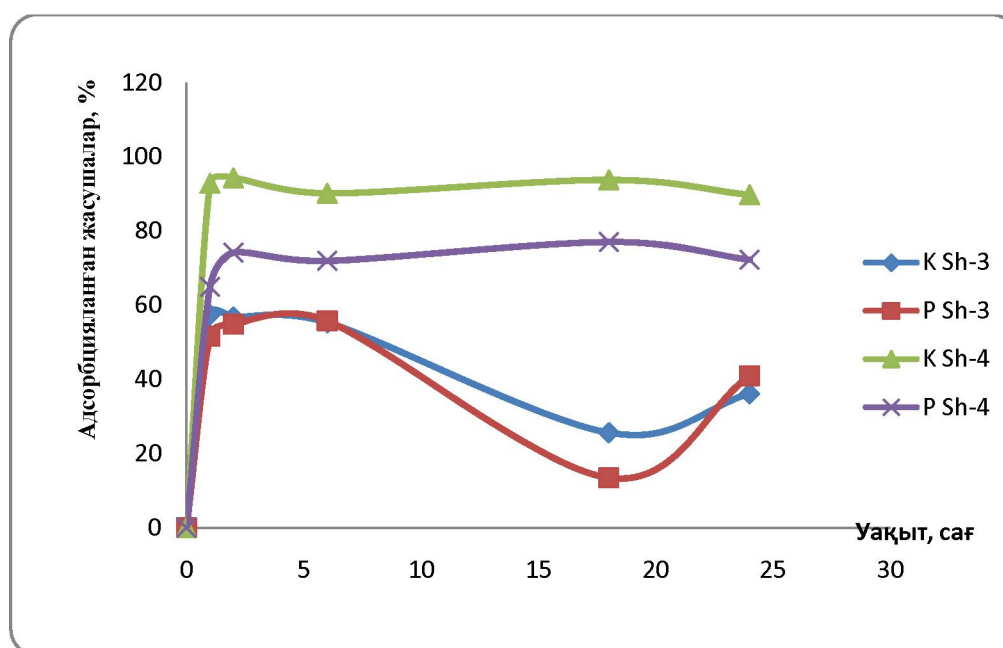
Кесте 2 – Нуклеотидтік тізбектіліктің идентификациясы нәтижелерінің халықаралық қордағы нәтижелері

Штаммның атауы	Инвентарлық нөмірі GeneBank	Идентификация нәтижелері бойынша штаммның атауы	Сәйкестік жиілігі, %
<i>Sh-3</i>	<i>NC_014562.1</i>	<i>Pantoea vagans</i>	99
<i>Sh-4</i>	<i>NC_017554.1</i>	<i>Pantoea ananatis</i>	99

Нуклеотидті тізбектегі 16S rRNA генінің ұқсастығы 97% кем болмау керек [12]. 2-кестеде келтірілген мәліметтерге сүйенетін болсақ, алынған штамм ұқсастығы максималды мәнге ие.

Микроағзаларды қатты бетке қондырудың төмендегідей артықшылықтары бар: микробты жасушалардың концентрациясын арттырады, олардың шайылуын болдырмайды, улы мұнай құрамдастарының әсерінен қорғайды, микрофлораның меншікті ыдырату белсенділігін арттырады.

1 - суретте «Зажегино» мен «Бақыршық» шунгит сорбенттеріне Алматы облысы мұнай шламдарынан бөлінген монокультуралы штамдардың *Sh-3* (*Pantoea vagans*), *Sh-4* (*Pantoea ananatis*) адсорбциялық қисықтары келтірілген.



Сурет 1 – «Бақыршық» және «Зажегино» сорбентіндегі *Sh-3* (*Pantoea vagans*) және *Sh-4* (*Pantoea ananatis*) микроағзалардың жасушаларының адсорбциялық динамикасы

1-суреттен көрініп тұрғандай «Бақыршық» сорбентіне бастапқы екі сағатта *Sh-3* штаммы 57% адсорбцияланса, тәжірбие соңында 36% төмендеген. Бұл микроағзалардың сорбент бетінен аз мөлшерде десорбциялануына байланысты болуы мүмкін. *Sh-4* штаммы бастапқы 2 сағатта *Sh-3*



қарағанда жоғары адсорбцияланғыш қабілет көрсетті-92%, тәжірбие соңында бұл мән аса өзгермейді - 93%.

*Sh-3* және *Sh-4* штамдарының «Загогино» сорбенттеріне адсорбциялануы «Бақыршық» сорбенттеріне қарағанда төмен (1-сурет). Алғашқы екі сағатта жасушалар төмендегідей көлемде адсорбцияланған: *Sh-3* штамы – 52%, *Sh-4* - 65%. Тәжірбие соңында *Sh-3* штамының адсорбциялануы 41 % төмендейді, ал *Sh-4* штаммының адсорбциясы 72% жетеді.

Сонымен біз *Sh-3* және *Sh-4* штамдары «Бақыршық» сорбенттерінде «Загогино» сорбенттерімен салыстырғанда жоғары адсорбцияланатыны анықталды.

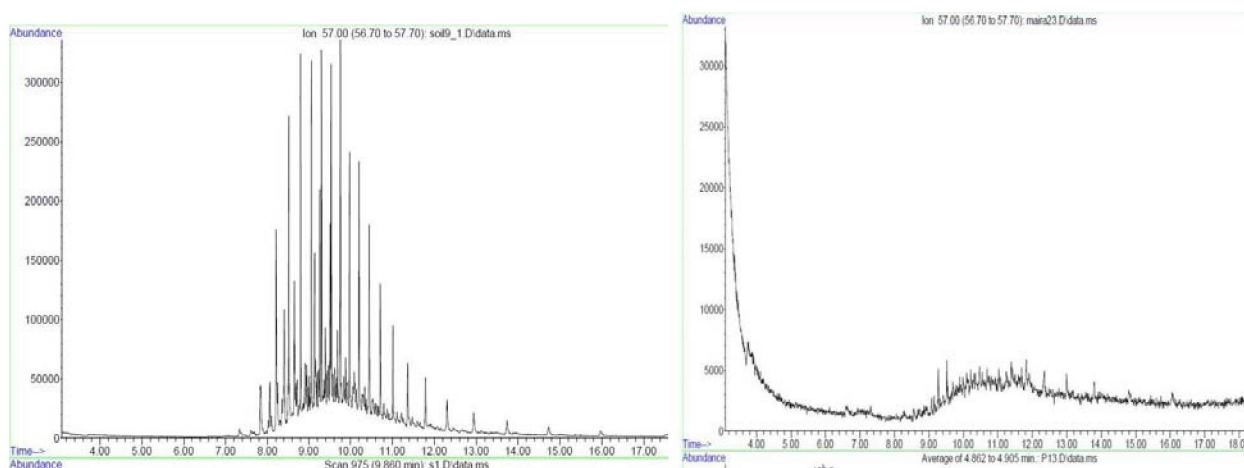
Топырақ биоремедиациясының нәтижелері 3-кестеде көрсетілген.

Кесте 3- Алматы облысының мұнаймен ластанған топырағын тазалау көрсеткіштері

Бөлінген клетка штамы (стерильденбеген)	С <sub>мұнай</sub> , мг/кг (30 тәу. кейін)	Тазарту дәрежесі,%	Бөлінген клетка штамы (стерильді)	С <sub>мұнай</sub> , мг/кг (30 тәу. кейін)	Тазарту дәрежесі%
	С <sub>баст</sub> =109,00 г/кг			С <sub>баст</sub> =109,00 г/кг	
<i>Sh-3</i>	0,70	99,3	<i>Sh-3</i>	0,91	99,2
<i>K Sh-3</i>	3,08	97,2	<i>K Sh-3</i>	1,09	99,0
<i>P Sh-3</i>	3,05	97,2	<i>P Sh-3</i>	0,89	99,1
<i>Sh-4</i>	0,40	99,6	<i>Sh-4</i>	1,86	98,3
<i>K Sh-4</i>	6,13	94,4	<i>K Sh-4</i>	2,09	98,1
<i>P Sh-4</i>	6,77	93,8	<i>P Sh-4</i>	3,01	97,2

Мұнайотықтырғыш микроағзалар мен биосорбентер қосылған ортада 1-айдан соң-ақ стерильді және стерильді емес топырақтарда органикалық заттардың концентрациясы сәйкесінше төмендеген, микроағза мен биосорбенттер үшін: *Sh-3*, *Sh-4* стерильді емес ортада деградация дәрежесі 99% астам көрсетсе, стерильді ортада: *Sh-3*, *K Sh-3*, *P Sh-3* жоғары ыдыратушылық қабілет көрсетті.

Хроматографиялық әдіспен мұнаймен ластанған топырақтың органикалық бөлігінің биоремедиацияға дейінгі және кейінгі химиялық құрамының сапалық өзгерістері зерттелді (2-сурет).



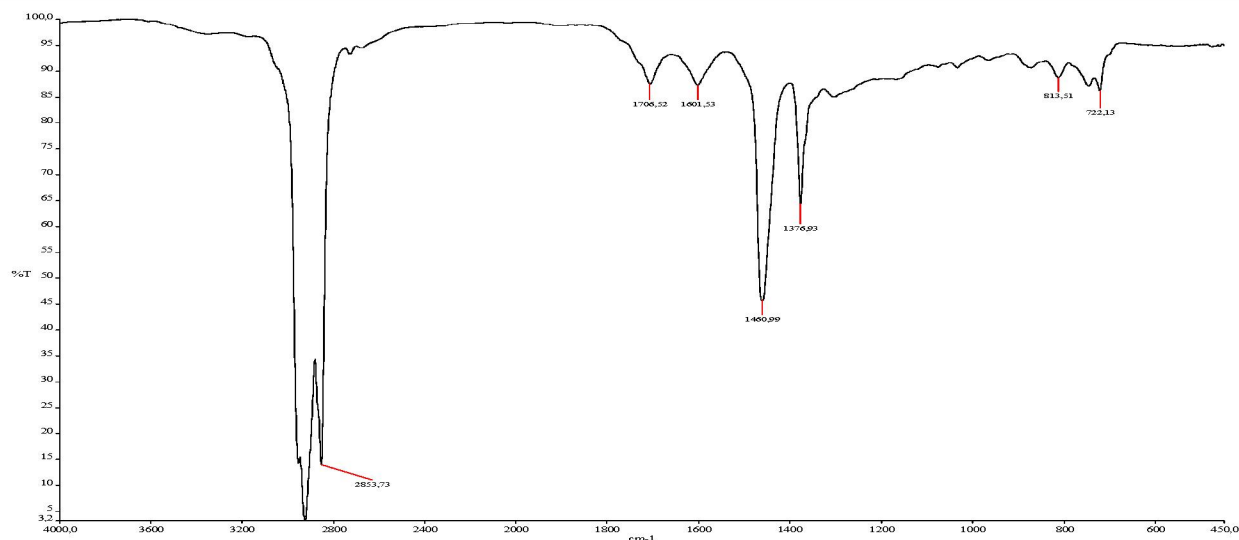
а)

б)

Сурет 2 – Алматы облысының мұнай өнімдерімен ластанған топырағының құрамындағы мұнай көмірсутектерінің жалпы мөлшерінің тазартуға дейінгі (а) және *K Sh-3* биосорбентпен тазалаудан кейінгі (б) хроматограммалары

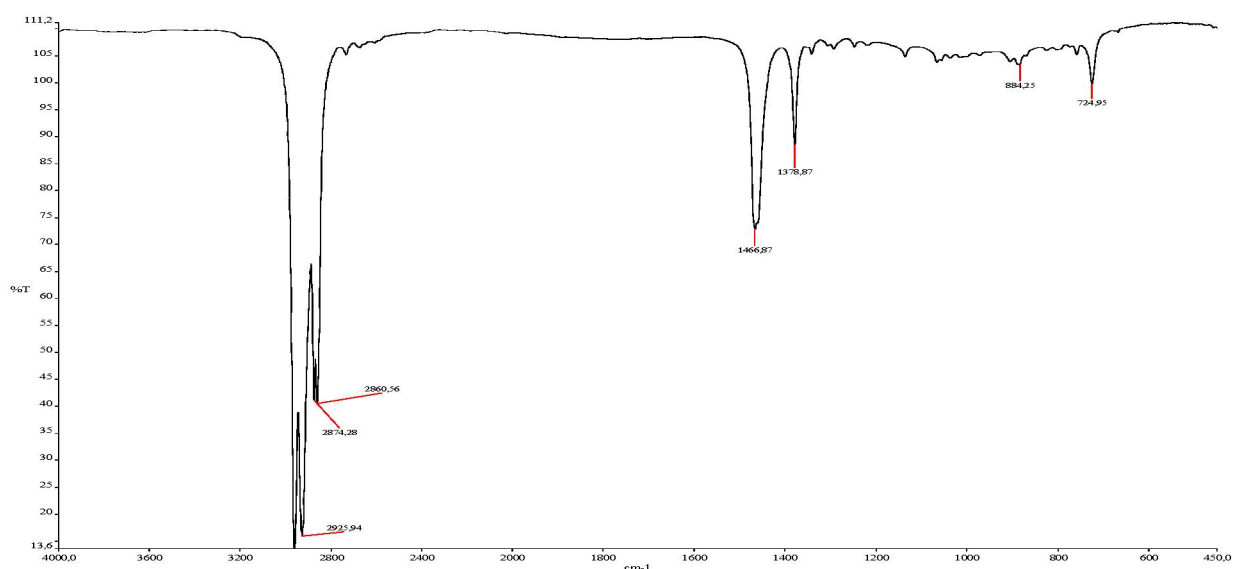
Хроматограммадан көрініп тұрғандай, биосорбенттермен тазартудан кейін топырақтың құрамындағы көмірсутектердің жалпы мөлшерінің азайған.

Топырақтың органикалық бөлігінің құрамындағы өзгерістерді анықтау үшін, ИҚ-спектрометрлік талдау жүргізілді.



Сурет 3 – Алматы облысынан алынған мұнаймен ластанған шламның органикалық бөлігінің ИҚ-спектрі

3-суретте бастапқы ластанған шламнан экстракцияланған органикалық бөлігінің инфрақызыл спектрлері келтірілген. Спектрде 2953, 2922, 2853, 1461, 1377  $\text{cm}^{-1}$  облыстарда жұтудың қарқынды жолақтары табылған. Толқынды сандардың осы мәндерінде жұту жолақтарының пайда болуы қаныққан көмірсутектердің айтарлықтай мөлшерінің бар екенін көрсетеді. 728  $\text{cm}^{-1}$ -де жұту жолақтары тізбекті нормалды көмірсутектердің валенттік және деформациялық тербелулерінің арқасында пайда болады. Бұл шламның құрамында парафинді көмірсутектердің барын білдіреді. 1601 және 812  $\text{cm}^{-1}$  жұту жолақтарының спектрі органикалық бөлікте бензолды сақиналармен байланысқан ароматты құрылымдарды, 1706  $\text{cm}^{-1}$  қарқындылығы орташа жолақтар органикалық оттеққұрамдас қосылыстардың карбонильді топтарының бар екенін көрсетеді. Бұл жолақтың пайда болуының себебі, ұзақ уақыт бойы ашық ауада сақтағанда күн сәулесі топырақ микрофлорасының өсу процестерін және оксигеназды белсенділігін жоғарлатады. Топырақтың органикалық бөлігінде оттеққұрамдас компоненттердің мөлшері байқалды.



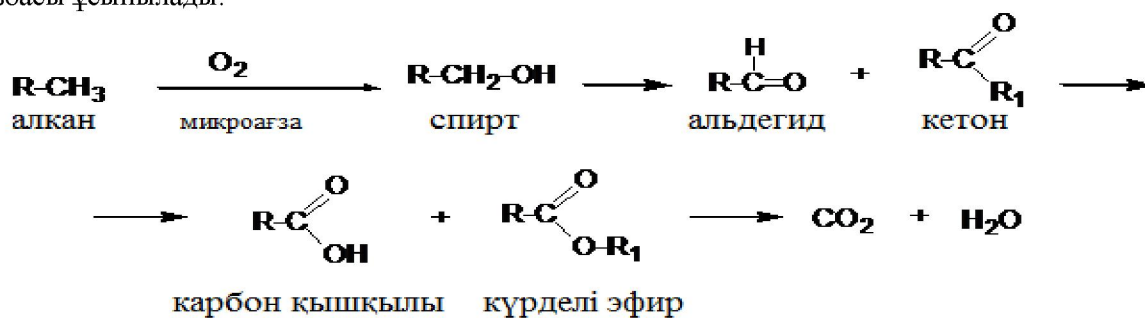
Сурет 4 - Микробты жасушаның әсерінен (Sh-3) кейінгі шламның органикалық бөлігінің ИҚ-спектрі

4-суретте көрсетілгендей 1 ай бойы микроағза жасушаларымен әсер еткенде топырақтың органикалық бөлігі бірқатар өзгеріске ұшырады. Биодegradацияланған топырақтың органикалық

бөлігінің ИҚ-спектрінде 1378, 1466, 2860, 2925, 2952  $\text{см}^{-1}$  ( $-\text{CH}_2$  и  $-\text{CH}_3$  топтарының валенттік және деформациялық тербелісі) алифатты құрылымды көмірсутектердің жұту жолақтары пайда болған. Бастапқы шламның органикалық бөлігінің спектрімен салыстырғанда жұту жолақтарының интенсивтілігі айтарлықтай төмендейді. 728  $\text{см}^{-1}$  кезіндегі жұту жолақтарының қарқындылығы әлсіз, ал 1601 және 812  $\text{см}^{-1}$ -дегі ароматты қосылыстардың және 1706  $\text{см}^{-1}$ -дегі оттекті қосылыстардың болуын көрсететін жұту жолақтары жойылып кеткен. Яғни, *Sh-3* штамы ароматты қосылыстар мен оттекті қосылыстарды ыдырататынын көрсетеді. Спектрде *n*-парафиннің микробты тотығуы кезіндегі метаболизмнің аралық өнімі болып табылатын әртүрлі оттеқ құрамдас органикалық қосылыстардың: спирттердің, эфирлердің және күрделі эфирлердің C-O, C-O-C функционалды топтарының тербелуі салдарынан толқын сандарының мәндері 1073, 1122, 1273  $\text{см}^{-1}$  болатын әлсіз жұту жолақтары пайда болды.

ИҚ-спектроскопия анализінің мәліметтерінен биоремедиация нәтижесінде мұнайдың оттеқ құрамдас компоненттерінің мөлшері пайда болып, парафиндер мен ароматты қосылыстардың мөлшерінің азаятындығын көруге болады. Бірінші кезекте гетероорынбасқан қанықпаған қосылыстардың таңдамалы тотығуы, кейін нормалды алкандардың тотығуы жүреді. Тәжірибе соңында көп мөлшерде эфирлі, карбонильді және карбоксильді топтары бар мұнайдың ыдырау өнімдері түзіледі.

Биодеградациядан кейінгі топырақтың органикалық бөлігінің хроматографиялық, ИҚ-спектроскопиялық анализ нәтижелері негізінде парафинді көмірсутектердің өзгеруінің келесідей сызбасы ұсынылады:



**Қорытынды.** Жүргізілген тәжірибелер негізінде биодеструкция нәтижесінде нормалды және тармақталған парафинді көмірсутектердің циклді және ароматты көмірсутектер және біраз оттеққұрамдас қосылыстарды түзе отырып өзгеріске ұшырайтынын болжауға болады.

Бір айдан соң зерттелінген шламның түсі мен иісінде бірқатар айырмашылықтар байқалды, ашық-қоңыр түсті топырақтың түсі тән, қышқыл органикалық иіс сезілмеді.

Бір айлық тәжірибе кезінде алынған нәтижелер мұнаймен ластанған топырақтың биоремедиация технологиясын жасауға негіз бола алады. Биопрепараттың жаңа сызбасы өңдеуші өндірістің экологияға келтіретін зардабын төмендетуге мүмкіндік береді. Осылайша, алынған зерттеу нәтижелерінен мұнай тотықтырғыш бактериялардың интродукциясы мұнаймен ластанған топырақтың қалпына келуін жылдамдатынына көз жеткіздік.

#### ӘДЕБИЕТ

[1] Абиева Л.К. Экологическое состояние почвенного покрова территории нефтегазовых промыслов Восточного Прикаспия // Нефть и газ. – 2004. – № 2. – С.105-109.

[2] Другов Ю.С., Родин А.А. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов.-М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010.- С. 6-20.

[3] Киреева Н.А. Использование биогаза для ускорения деструкции нефти в почве // Биотехнология.-1995. - № 5-6. - С. 32-35.

[4] Орлов Д.С., Бочарникова Е.А., Амосова Я.М. Изменение физико- химических свойств почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами // Тез. докл. респ. сем. «Экотоксикология и охрана природы». - Юрмала; Рига, 1988. - С. 128-130.

[5] Киреева Н.А. Микробиологические процессы в нефтезагрязненных почвах.-Уфа: Недра, 1994. – 171 с.

[6] Пиковский Ю.А., Геннадиев А.Н., Чериянский С.С., Сахаров Г.Н. Проблема диагностики и нормирования загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами// Почвоведение.- 2003. - № 9. - С. 1132-1140.

- [7] Oren A., Gurevich P., Azachi M., Henis Y. Microbial degradation of pollutants at high salt concentrations // *Biodegradation*.-1992. - Vol. 3. - P. 387-398.
- [8] Самсонова А.С., Семочкина Н.Ф., Алещенкова З.М., Бегельман М.М. Влияние загрязнений нефтью на микрофлору почвы // *Микробиология и биотехнология на рубеже XXI столетия: материалы межд. конф. Нац. Акад. Наук Беларуси*. – Минск: Бел. Гос. Унив., 2000. - С. 204-205.
- [9] Жумагулов Б.Т. Экологические проблемы нефтегазовой отрасли // *Нефть и газ*. – 2005. – № 6. – С.40-45.
- [10] Wilson K. Preparation of genomic DNA from bacteria. *Current Protocols in Molecular Biology*. (Editors Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A., et al.). - New York: Wiley, 1987.- 650 p.
- [11] Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии: учеб. пособие для студ.высш.учеб. заведений. – М.: Издательский центр; Академия, 2005. – 608 с.
- [12] Stackebrandt E., Goebel B.M. Taxonomic note: a place for DNA–DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology // *International Journal of Systematic Bacteriology*. – 1994. – Vol. 44. – P. 846–849.

#### REFERENCES

- [1] Abieva L.K. *Neft' i gaz*, **2004**, 2,105-109 (in Russ.)
- [2] Drugov Ju.S., Rodin A.A., M.: *BINOM. Laboratorija znanij*, **2010**, 6-20 (in Russ.)
- [3] Kireeva N.A. *Biotehnologija*, **1995**, 5-6, 32-35(in Russ.)
- [4] Orlov D.S., Bocharnikova E.A., Amosova Ja.M. *Tez. dokl. resp. sem. «Jekotoksikologija i ohrana prirody»*, **1988**, 128-130 (in Russ.)
- [5] Kireeva N.A. *Nedra*, **1994**, 171 (in Russ.)
- [6] Pikovskij Ju.A., Gennadiev A.N., Cherijskij S.S., Saharov G.N. *Pochvovedenie*, **2003**, 9, 1132-1140 (in Russ.)
- [7] Oren A., Gurevich P., Azachi M., Henis Y. *Biodegradation*, **1992**, 3, 387-398 (in Russ.)
- [8] Samsonova A.S., Semochkina N.F., Aleshhenkova Z.M. *Mikrobiologija i biotehnologija na rubezhe XXI stoletija: materialy mezhd. konf. Nac. Akad. Nauk Belarusi. Minsk: Bel. Gos. Univ.*, **2000**, 204-205 (in Russ.)
- [9] Zhumagulov B.T. *Neft' i gaz*, **2005**, 6,40-45(in Russ.)
- [10] Wilson K. *Current Protocols in Molecular Biology*, New York: Wiley, **1987**, 650 (in Eng.)
- [11] Netrusov A.I., Egorova M.A., Zaharchuk L.M., M.: *Izdatel'skij centr; Akademiya*, **2005**, 608 (in Russ.)
- [12] Stackebrandt E., Goebel B.M. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **1994**, 44, 846–849 (in Eng.)

М.К. Казанкапова<sup>1\*</sup>, М.К. Наурызбаев<sup>2</sup>, Б.Т. Ермагамбет<sup>1</sup>, С.А. Ефремов<sup>2</sup>, В. Брайда<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ТОО «Институт химии угля и технологии», г. Астана, Казахстан;

<sup>2</sup> Казахский национальный университет им. аль-Фараби,

Центр физико-химических методов исследования и анализа, г. Алматы, Казахстан;

<sup>3</sup> Технологический институт Стивенса, Центр экологических систем, г. Хобокен, США

#### ИССЛЕДОВАНИЕ БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ШУНГИТОВЫХ СОРБЕНТОВ, ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

**Аннотация.** В лабораторных условиях проведена биоремедиация загрязненных нефтью природных объектов, иммобилизованными на шунгитовый сорбент с нефтеокисляющими микроорганизмами. Впервые представлены данные о микроорганизмах, выделенных из почв загрязненных нефтешламами, накапливающимися в резервуарах Алматинской области. Проведен скрининг и идентификация выделенных активных штаммов микроорганизмов (*Pantoea vagans*, *Pantoea ananatis*). Изучена иммобилизация клеток нефтеокисляющих бактерий на шунгитовых сорбентах Казахстана (месторождение «Бакырчик») и России (месторождение «Зажигоно»). Исследована сорбционная и деструктивная активность штаммов микроорганизмов. На основании результатов хроматографического анализа и ИК-спектроскопии, микроорганизмы (*Pantoea vagans*, *Pantoea ananatis*) обеспечивают эффективную адсорбционно-биологическую очистку почвы от нефти.

**Ключевые слова:** иммобилизация, адсорбция, биосорбент, микроорганизм, шунгит, нефть.