

УДК 662.75:631.461

О.Н. АУЭЗОВА<sup>1</sup>, А.В. ГАБДРАКИПОВ<sup>2</sup>, Г.Д. САДЫКОВА<sup>2</sup>

## МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ УТИЛИЗАЦИЯ НЕФТИ НА РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ПОЧВ ПРИКАСПИЯ

(Институт почвоведения им У. У. Успанова МСХ РК,<sup>1</sup>  
ТОО «Научный аналитический центр»<sup>2</sup>)

*Изучена способность 8 бактериальных штаммов, ранее выделенных из нефтезагрязненных почв Западного Казахстана, утилизировать нефтяную смесь различных месторождений. Отмечено, что наибольшую активность они проявляли на приморско-луговых, несколько слабее эта способность была на бурых и слабая на серо-бурых почвах. Методом газожидкостной хроматографии прослежено, как исследуемые штаммы микроорганизмов утилизируют парафинистую фракцию нефтяной смеси. Шесть из них интенсивно потребляли как жидкие, так и твердые парафины.*

Обширная территория Западного Казахстана охвачена добычей, транспортировкой и переработкой углеводородного сырья. Это влечет за собой неизбежные выбросы нефти в окружающую среду. Экологические последствия такого прессинга губительно сказываются на всех экосистемах и в первую очередь на почвенном покрове. Сама природа пустыни очень хрупка и ранима. Такие природные факторы, как высокая степень аридности климата, засоление, карбонатность, бесструктурность и малая мощность пустынных почв, уже создают предпосылки для деградации почвенного покрова [1].

В загрязненных нефтью почвах нарушаются важнейшие генетические показатели: изменяется естественный морфологический профиль, содержание и состав гумуса, количество азота, фосфора, микроэлементов и почвенно-поглощающий комплекс, увеличивается объемная масса, снижаются порозность, аэрация и водопроницаемость, уменьшается доступная растениям влага. На этом фоне резко сокращаются численность и видовое разнообразие многих групп микроорганизмов. Доминируют при нефтяном загрязнении углеводородокисляющие микроорганизмы, способные использовать органические соединения нефти в своем конструктивном и энергетическом обмене. Они принадлежат ко многим таксономическим группам, являясь обычными для микробных ценозов. Разнообразие ферментативных систем, быстрая адаптация к изменяющимся условиям делают их способными минерализовать сложные углеводороды до углекислоты и воды или превращать в соединения, утилизирующие

мые другими группами микроорганизмов, т.е. возвращать в биологические циклы в безвредной форме. Высокая деструкционная активность дает возможность использовать углеводородокисляющие микроорганизмы в прикладных аспектах, в частности для биоремедиации нефтезагрязненных почв.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Западный нефтедобывающий регион расположен в зоне преобладания бурых, серо-бурых почв. Особенностями ландшафтов этой зоны являются бессточность территории, широкое распространение соленосных и карбонатных почвогрунтов, формирование комплексного покрова с большими участками солонцов. Бурые почвы малогумусные, в различной степени засолены, в зависимости от механического состава заметно отличаются и их эколого-генетические характеристики.

Основные районы распространения серо-бурых почв Западном Казахстане примыкают к плато Устюрт и равнинному Мангистау. Развитие серо-бурых почв протекает в условиях острого дефицита влаги. По отношению к бурым почвам они обладают меньшей мощностью гумусового горизонта и еще менее, чем бурые, устойчивы к антропогенным нагрузкам.

В исследуемом регионе среди зональных бурых и серо-бурых почв распространены однородными, иногда довольно крупными массивами или, что бывает чаще, образуют комплексы и сочетания различные интразональные почвы. Среди них наиболее широко представлены и являются

характерными приморско-луговые почвы. Они формируются в хорошо выраженных понижениях рельефа, в условиях периодически повышенного увлажнения под влиянием минерализованных грунтовых вод хлоридно-натриевого типа. По отношению к бурым и серо-бурым почвам они содержат больше гумуса. Поэтому приморско-луговые почвы являются более плодородными и более устойчивыми к антропогенным нагрузкам, в том числе и к нефтехимическому загрязнению [2].

Для исследования были отобраны эти три типа почв, предварительно измельченные и просеянные через сито с диаметром отверстий 1 мм, и помещены в бюксы. Искусственное загрязнение почвы проводили смесью нефтей (месторождения Доссор, Теренузек, Жанаозен и Кумколь), которая по химическим параметрам представляет собой широкий спектр различных углеводородов. По классификации оценки загрязненности почв количеством добавленной нефтяной смеси соответствовало сильной степени загрязнения [3]. Количественное содержание внесенной и остаточной нефти определяли весовым методом на аналитических весах ТУР PRL TA13 [4]. Качественный состав потребляемой микроорганизмами парафинистой фракции нефти идентифицировали методом капиллярной газожидкостной хроматографии на приборе Perkin Elmer Auto System XL (США) с капиллярной колонкой PE-5MS-30м, газ-носитель – гелий при программировании температуры термостата от 50 до 320 °C, с температурой испарителя 300 °C. Почву экстрагировали *n*-гексаном и четыреххлористым углеродом.

В эксперименте использовали 8 штаммов микроорганизмов, выделенных из нефтезагрязненных почв Западного Казахстана. Все они представляют собой бактериальные формы.

**Количественное потребление нефти углеводородокисляющими бактериями на различных типах почв, %**

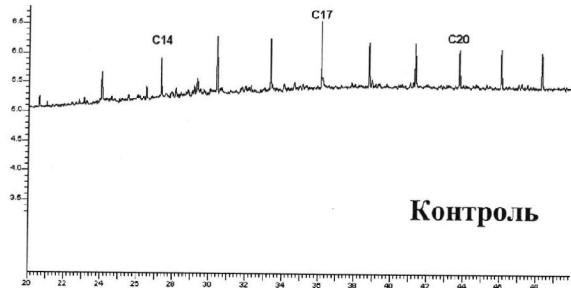
Штаммы микроорганизмов	Эффективность утилизации нефти в почве		
	бурый	серо-бурые	приморско-луговой
Контроль	7,9	5,0	6,1
4-А	72,2	33,3	84,8
5-А	48,0	11,7	52,7
5Б-А	55,2	19,1	70,0
7-А	75,0	21,4	63,1
21-А	52,6	31,3	72,3
44-А	50,0	30,0	78,7
8-С	65,3	30,3	52,6
12-С	55,2	19,1	68,4

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При нефтяном загрязнении в почву поступает большое количество углерода, при этом резко меняется соотношение С: N. Как известно, для нормального роста бактерий требуется около 10 частей углерода на одну часть азота. Если это соотношение больше, то рост бактерий и утилизация углеводородов происходит медленно. Кроме того, загрязнение среды нефтью приводит к снижению содержания подвижного фосфора и обменного калия, закупорке почвенных пор и, как следствие, отсутствию доступа кислорода. В эксперименте при добавлении нефти и микроорганизмов вносились азотно-фосфорно-калиевое удобрение. Проводились аэрация и увлажнение почвы. Микроорганизмы вносили в виде суспензии плотностью 10<sup>9</sup> кл/мл. Контрольным вариантом служила почва трех типов с добавлением нефтяной смеси, но без внесения микроорганизмов.

По истечении 30 сут определяли содержание остаточной нефти и высчитывали процент ее утилизации. Как видно из таблицы, наибольшую биоокислительную способность все штаммы проявляли на приморско-луговой, несколько ниже она была на бурой почвах. Утилизация нефти на серо-буровой почве была самая слабая (в среднем 24,5%). Такую значительную разницу по утилизации нефти одними и теми же микроорганизмами можно объяснить различиями физико-химических характеристик этих типов почв [2].

Характеризуя отдельные штаммы вносимых в почву бактерий, можно отметить следующее: на бурой почве высокая активность (свыше 60%) отмечена у трех штаммов (7-А, 4-А, 8-С), на приморско-луговом типе почв такой способностью обладали шесть культур (4-А, 5Б-А, 7-А, 21-А,



Контроль



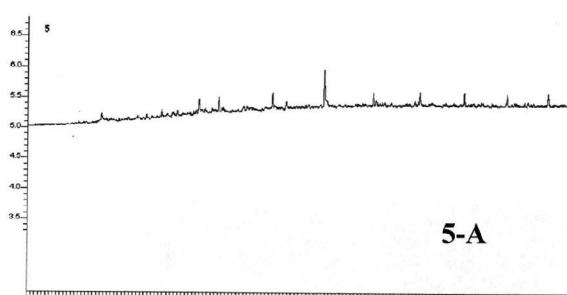
4-А



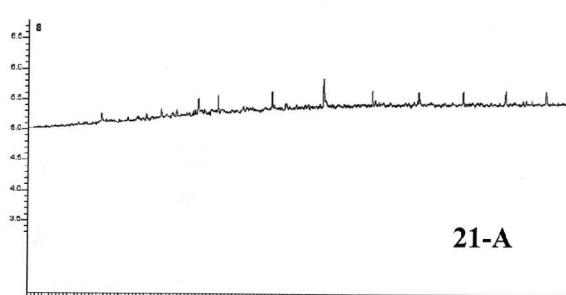
7-А



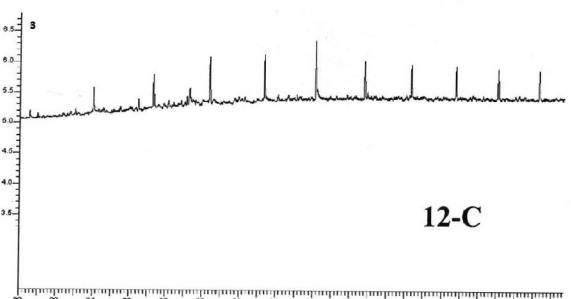
8-С



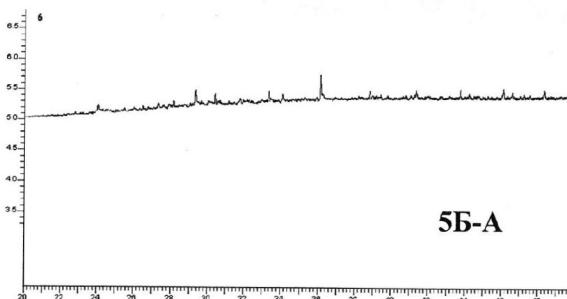
5-А



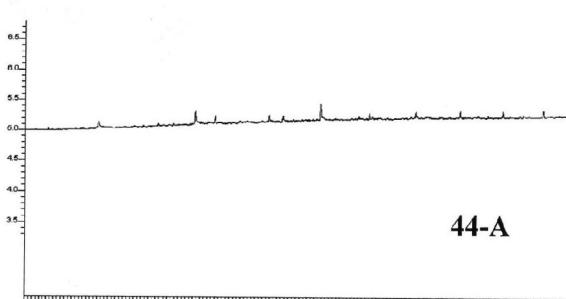
21-А



12-С



5Б-А



44-А

Хроматограммы, отражающие потребление парафинистой фракции нефти бактериальными культурами на приморско - луговой почве

44-А, 12-С). Штамм 4-А проявлял высокую деструкционную активность как на приморско-луговой и бурой, так и имел самый высокий процент потребления нефти на серо-бурой почве.

Нефтяная смесь, используемая в эксперименте, состоит из нефтей нескольких месторождений для того, чтобы охватить как можно больший спектр углеводородов. Известно, что нефти всех месторождений хотя и имеют единство состава и структуры (углерод 83–87%, водород 12–14%, азот, сера, кислород 1–2%), но различаются между собой входящими в их состав группами химических соединений (парафины, нафтены, ароматические углеводороды и т.д.).

В составленной для эксперимента нефтяной смеси присутствуют все классы органических соединений, но преобладающей является парафинафтеновая фракция углеводородов. Загрязнение такими нефтями негативно влияет на генетические свойства и морфологический профиль почвы.

Загрязненный слой приобретает коричневобурую и смолисто-черную окраску, битумная толща становится вязкой, плотной, выворачивается глыбами. Сам парафин не токсичен для растений, но твердые его составляющие при низких температурах кристаллизуются в прочную массу, адсорбируя смолистые вещества и асфальтены. Это сильно изменяет водоно-физические свойства почв. Обволакивая корневые системы, тяжелые углеводороды резко снижают поступление кислорода и влаги, что приводит к гибели растений.

Методом газожидкостной хроматографии прослежено, как исследуемые бактериальные штаммы утилизируют непосредственно парафино-цикло-парафиновую фракцию. На рисунке приведены хроматограммы, отражающие как качественную, так и количественную утилизацию парафинов и нафтенов микроорганизмами на приморско-луговой почве. Контролем служила та же нефтяная смесь, что и при определении потребления всей нефти. На хроматограммах отражены жидкая фракция с С<sub>12</sub> до С<sub>18</sub> и твердые парафины с С<sub>19</sub> по С<sub>22</sub>. Микробиологическое окисление парафинов обусловливается наличием сложных ферментов – оксидаз смешанных функций (оксигеназ), осуществляющих введение одного

атома кислорода из его молекулярной формы в концевую метильную группу углеводорода, и наличием в клетках приспособлений, обеспечивающих поглощение гидрофобного, не растворимого в воде субстрата, каким являются *n*-алканы. Ферменты, ответственные за окисление углеводородов, связаны с мембранными структурами [5].

Как видно, среди бактерий наибольшую активность по потреблению парафинистой фракции нефти проявляли штаммы 44-А, 4-А, 5Б-А. Они утилизировали как жидкие, так и твердые парафины. Несколько ниже эта способность была у штаммов 5-А, 21-А и 7-А. Относительно контроля невысокая активность отмечена у культур 8-С и 12-С, хотя количественное потребление всей нефтяной смеси на приморско-луговой почве у них значительное – 52,6 и 68,4%. Очевидно, в процессе своего метаболизма они в большей степени используют другие, непарафинистые фракции нефти.

Таким образом, оценивая способность изучаемых бактериальных штаммов утилизировать нефть на трех типах почв, преобладающих в Прикаспийском регионе, можно отметить, что наибольшую деструкционную активность они проявляли на приморско-луговой. Несколько меньшей эта активность была на бурых и слабой на серо-бурых почвах. Шесть штаммов из восьми интенсивно утилизировали как жидкие, так и твердые парафины. При осуществлении оптимальных агромелиоративных приемов исследуемые штаммы могут быть использованы для рекультивации нефтезагрязненных почв Западного Казахстана.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Асанбаев И.К. Антропогенные изменения почв и их экологические последствия. Алматы: Наука, 1998. 180 с.
2. Фаизов К.Ш. Почвы пустынной зоны Казахстана. Алма-Ата: Наука, 1980. 134 с.
3. Пиковский Ю.И., Геннадиев А.Н., Чернянский С.С., Сахаров Г.Н. Проблема диагностики и нормирования загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами // Почвоведение. 2003. № 9. С. 1132-1140.
4. Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. М.: Химия, 1984. 448 с.
5. Коронелли Т.В. Микробиологическая деградация углеводородов и ее экологические последствия // Биологические науки. 1982. № 3. С. 55-80.