

# **ПРОБЛЕМЫ СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ В УСЛОВИЯХ ВОЗРАСТАЮЩЕГО АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**

## **БИОДЕСТРУКЦИЯ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ В ПРИСУТСТВИИ МИКРОБНЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И КЛЕТОК *NOCARDIA VACCINII* ИМБ 7405**

*Н.А. Гриценко, Т.П. Пирог*

*Национальный университет пищевых технологий, Киев, Украина*

## **BIODEGRADATION OIL POLLUTION IN THE PRESENCE OF MICROBIAL SURFACE-ACTIVE SUBSTANCES AND CELL *NOCARDIA VACCINII* ИМБ 7405**

*N.A. Gritsenko, T.P. Pirog*

*National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine*

За последние десятилетия одной из глобальных проблем человечества стало ухудшение экологической ситуации на планете. Множество исследований проводится в этой сфере, однако остается достаточно много нерешенных вопросов, в основном из-за экономической нецелесообразности внедрения тех или иных природоохранных технологий.

В то же время микробные поверхностно-активные вещества (ПАВ) являются объектом интенсивных теоретических и прикладных исследований, что обусловлено их возможным практическим использованием в различных отраслях промышленности, а также для очистки окружающей среды от нефтяных загрязнений. Поскольку в последние годы на западнокамчатском шельфе идет активная нефтегазоразведка и планируется промышленное освоение месторождений углеводородов, в случае его реализации этот регион неизбежно столкнется с проблемой загрязнения прибрежных вод нефтью и необходимостью их последующей очистки. Преимуществами микробных ПАВ по сравнению с химическими аналогами является биodeградебельность, нетоксичность, постоянство физико-химических свойств в широком диапазоне рН и температуры (Singh, 2007).

Ранее из загрязненных нефтью образцов почвы был выделен штамм нефтеокисляющих бактерий, идентифицированный как *Nocardia vaccinii* ИМВ В-7405 и депонированный в Депозитарии Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного под номером ИМВ В-7405 (Пирог, 2005). Установлена его способность синтезировать метаболиты с поверхностно-активными и эмульгирующими свойствами (Пирог и др., 2011). Исследованы закономерности синтеза ПАВ на глицерине и оптимизирован состав питательной среды для культивирования *N. vaccinii* ИМВ В-7405 на этом субстрате с использованием математических методов планирования эксперимента (Пирог и др., 2011).

Целью нашей работы было изучение роли клеток и препаратов ПАВ *N. vaccinii* ИМВ В-7405 в процессах биоремедиации загрязненных нефтью воды и песка. На первом этапе изучали процессы биодеструкции нефти в присутствии клеток штамма ИМВ 7405 (табл. 1).

**Таблица 1.** Влияние концентрации клеток *N. vaccinii* ИМВ 7405 и количества процедур обработки на степень деструкции нефти (2,6 г/дм<sup>3</sup>)

Концентрация клеток в суспензии, КОЕ/см <sup>3</sup>	Количество процедур обработки	Остаточная концентрация нефти, г/дм <sup>3</sup>	Степень деструкции нефти, %
(9.8 ± 0.5)·10 <sup>7</sup>	одна	0.13 ± 0.007	95
	две	0.44 ± 0.022	83
(4.9 ± 0.2)·10 <sup>7</sup>	одна	0.55 ± 0.028	79
	две	0.78 ± 0.039	70

Из данных, представленных в таблице 1, видно, что максимальный показатель микробной деструкции нефти (до 95 %) был достигнут при использовании суспензии с высокой концентрацией клеток при однократной обработке.

На следующем этапе исследовали процесс деструкции нефти после внесения препаратов ПАВ, синтезированных *N. vaccinii* ИМВ 7405. Эксперименты показали, что после обработки препаратами поверхностно-активных веществ активная деструкция нефти наблюдалась уже на седьмые сутки. Данные количественного определения остаточной нефти на 30-е сутки эксперимента в образцах и степень ее деструкции представлены в таблице 2.

Как видно из представленных данных, максимальная эффективность деструкции нефти в загрязненной воде (67 %) достигается при двукратной обработке супернатантом культуральной жидкости. Незначительно ниже показатели получены при однократном внесении супернатанта и при одно- и двукратном внесении культуральной жидкости (50–60 %).

**Таблица 2.** Влияние препаратов ПАВ *N. vaccinii* ИМВ В-7405 на микробную деструкцию нефти в загрязненной воде

Препарат ПАВ	Концентрация препарата ПАВ, %	Количество процедур обработки	Концентрация остаточной нефти, г/дм <sup>3</sup>	Степень деструкции нефти, %
Культуральная жидкость	5	одна	1.18 ± 0.06	54.7
	15	одна	1.07 ± 0.05	58.8
	10	две	0.85 ± 0.04	67.2
Супернатант культуральной жидкости	5	одна	1.23 ± 0.06	52.8
	15	одна	1.09 ± 0.05	58.0
	10	две	1.05 ± 0.05	59.5

Таким образом, процесс очистки загрязненной воды при обработке суспензией клеток и препаратами ПАВ имеет похожий характер. Видовой состав микрофлоры расширялся, наблюдалось разрушение нефтяной пленки на поверхности модельных водоемов. С другой стороны, степень деградации нефти значительно отличается – 95 % против 67 % при использовании суспензии клеток и супернатанта соответственно. Это свидетельствует о том, что для окончательного понимания механизма процесса необходимо проводить дальнейшие исследования, в том числе и в реальных экосистемах.

Также нами проведено исследование очистки загрязненного нефтью песка. Песок был предварительно простерилизован для исключения влияния природной микрофлоры. Известно, что песок имеет большую площадь контакта, поэтому хорошо адсорбирует нефть на своей поверхности.

В процессе опыта образцы периодически перемешивали и увлажняли. Из литературных данных известно, что аэрация необходима для интенсификации процесса деструкции нефти. По окончании опыта была проведена экстракция остаточной нефти и оценка эффективности очистки (табл. 3).

Как видно из данных, представленных в таблице 3, разница в количестве остаточной нефти незначительна. Но деструкция нефти в образцах, обработанных супернатантом, происходила в результате активности микрофлоры нефти или воздуха, поскольку влияние микрофлоры песка и воды было исключено.

Наличие клеток нефтеокисляющих бактерий в случае обработки культуральной жидкостью не вызывало повышения эффективности очистки, последняя даже несколько снизилась.

В свою очередь, нефтеотмывающие свойства культуральной жидкости бактерий *N. vaccinii* ИМВ 7405 оценивали по количеству неотмытой (остаточной) от поверхности песка нефти.

**Таблица 3.** Очистка песка от нефти после обработки препаратами ПАВ *N. vaccinii* ИМВ В-7405

Препарат	Количество остаточной нефти в пробе, г	Степень деструкции нефти, %
Постферментационная культуральная жидкость	18.4 ± 0.92	9.1
Супернатант культуральной жидкости	18.2 ± 0.91	10.1
Контроль	20.3 ± 1.01	–

Как препарат для нефтеотмывания использовали постферментационную культуральную жидкость. Клетки не осаждали с целью снижения продолжительности и стоимости (что особенно важно при использовании ПАВ в промышленных масштабах) процесса. Результаты представлены в таблице 4.

**Таблица 4.** Влияние концентрации на нефтеотмывающие свойства поверхностно-активных веществ *N. vaccinii* К-8

Количество препарата, см <sup>3</sup>	Количество остаточной нефти, см <sup>3</sup>	Процент отмытой нефти, %
10	12.6 ± 0.38	65 ± 2.0
20	7.9 ± 0.24	78 ± 2.4
30	3.0 ± 0.12	89 ± 2.8

В результате исследований зафиксирована высокая нефтеотмывающая способность культуральной жидкости *N. vaccinii* ИМВ В-7405. Визуально наблюдалось отмывания нефти из песка, переход ее в водную фазу. Процент отмытой нефти менялся в зависимости от объема внесенного препарата. Так, при внесении 10 см<sup>3</sup> культуральной жидкости было отмыто около 81 % нефти, а внесение 30 см<sup>3</sup> привело к полной очистке песка.

В результате исследований нами установлена возможность использования клеток и препаратов ПАВ *N. vaccinii* ИМВ В-7405 для очистки воды и песка от нефтяных загрязнений, что может быть использовано при разработке природоохранной технологии.

## ЛИТЕРАТУРА

Пирог Т.П. 2005. Использование иммобилизованных на керамзите клеток нефтеокисляющих микроорганизмов для очистки воды от нефти // Прикладная биохимия и микробиология. Т. 41. № 1. С. 58–63.

Пирог Т.П., Гриценко Н.А., Хомяк Д.И., Конон А.П. 2011. Оптимизация синтеза

поверхностно-активных веществ *Nocardia vaccinii* К-8 при биоконверсии отходов производства биодизеля // Микробиол. журн. Т. 73. № 4. С. 15–24.

*Singh A.* 2007. Surfactants in microbiology and biotechnology. Part 2. Applications aspects // *Biotechnol. Adv.* Vol. 25. P. 99–121.