

УДК 579.6

Е.О. Досжанов*, Е.К. Онгарбаев, З.А. Мансуров, А.А. Жубанова

Институт проблем горения, Казахстан, г. Алматы

*E-mail: Yerlan.Doszhanov@kaznu.kz

**Изучение ремедирующей активности комплекса растения –
микроорганизмы в модельных экспериментах
в отношении нефтезагрязненных почв**

Проведены результаты экспериментальных исследований ремедиационных процессов окисления различных нефтяных углеводородов бактериальными клетками *Pseudomonas* и некоторыми видами смеси семян бобовых и злаковых растений. Установлено, что максимальной ремедирующей активности комплекса растения-микроорганизмы подверглись предельные углеводороды.

Ключевые слова: ремедиация, окисление, растения, микроорганизмы, углеводороды.

Е.О. Досжанов, Е.К. Онгарбаев, З.А. Мансуров, А.А. Жубанова

**Мұнаймен ластанған топырақтар қатынасындағы модельді тәжірибелердегі өсімдіктер-
микроорганизмдер жиынтығының максималды ремедиациялық активтілігін зерттеу**

Зерттеу барысында *Pseudomonas* бактериалды клеткалары мен кейбір қоспа түрлеріне жататын бұршақ және астық тұқымды өсімдіктері әртүрлі мұнай көмірсутектерге ремедиациялық тотығу процестері эксперименталды зерттеу нәтижелері жүргізілді. Өсімдіктер-микроорганизмдер жиынтығының максималды ремедиациялық активтілігіне қаныққан көмірсутектердің ұшырағаны көрсетілді.

Түйін сөздер: ремедиация, тотығу, өсімдіктер, микроорганизмдер, көмірсутектер.

Ye.O. Doszhanov, Ye.K. Ongarbaev, Z.A. Mansurov, A.A. Zhubanova

**The study remediation activity of complex plant- microorganisms in model experiments
of oil pollution soil**

In this study, results have presented on remediation processes of oxidation of various petroleum hydrocarbons by *Pseudomonas* bacteria cells and by specific types of mixture between seed of legumes and cereals. It has found that the maximum remediation activity of complex plant- microorganisms was characterized for saturated hydrocarbons.

Keywords: remediation, oxidation, plants, microorganisms, hydrocarbons.

В настоящее время вследствие роста объёма добычи, транспортировки и переработки нефти наблюдается широкомасштабное загрязнение нефтяными углеводородами объектов окружающей среды в районах нефтедобычи и нефтепереработки, таких, как вода, прибрежные зоны, донные отложения и почвы [1].

Известно, что углеводороды нефти отличаются высокой токсичностью. Так, в отношении водных организмов токсическое действие этих поллютантов наблюдается уже при concentra-

ции нефти 0,01-0,3 мг/л, для почвенных организмов ПДК по нефти и нефтепродуктам составляет 0,1-0,3 мг/кг. Существующие физико-химические методы очистки почв и водоемов от нефти и нефтепродуктов характеризуются высокой стоимостью, сложностью исполнения, образованием токсичных промежуточных продуктов и твердых остатков.

Большой интерес ученых и практиков привлекают методы биоремедиации (восстановления) загрязненных объектов внешней среды при

помощи биопрепаратов на основе микроорганизмов, способных использовать органические загрязнители в качестве источника углерода. Благодаря разнообразию метаболических возможностей, эти объекты способны через серию реакций, катализируемых ферментами, проводить расщепление поллютантов органической природы и включать образующиеся при этом продукты в основной метаболизм микробных клеток.

Исследования показали, что для повышения эффективности очистки необходимо использовать штаммы-деструкторы, специально выделенные из загрязненных биообъектов, способные утилизировать конкретные ксенобиотики. Применение консорциума, в который включены такие штаммы, дает возможность создавать эффективные биопрепараты для деструкции сложных органических соединений и утилизации основных загрязнителей, обеспечивая, таким образом, протекание ремедиационных процессов.

Работы последних десятилетий показали, что повышения эффективности работы биопрепаратов можно достигнуть использованием клеток микроорганизмов-деструкторов, иммобилизованных на различных носителях. Это связано с тем, что прикрепление клеток к твердым поверхностям обеспечивает высокую концентрацию микробных клеток в зоне их действия, предотвращает их вымывание, защищает от действия высоких концентраций токсических компонентов нефти и создает возможность для увеличения удельной специфической деструктивной активности микрофлоры. Немаловажно и то, что применяемые минеральные носители могут использоваться микроорганизмами в качестве источника минерального питания. Для конструирования иммобилизованных биодеструкторов используют различные методы и носители, из которых наиболее простым и относительно дешевым является адсорбция микробных клеток на различных химически и биологически инертных носителях, нерастворимых в воде.

В связи с вышесказанным, проведение исследований, посвященных решению проблемы восстановления загрязненных нефтью экосистем с помощью биопрепаратов на основе свободных и иммобилизованных клеток микроорганизмов – нефтедеструкторов, представляет большой на-

учный и практический интерес. Поэтому поиск эффективных микроорганизмов-нефтедеструкторов, способов активизации микроорганизмов, имеющихся в очищаемой почве, и создание полноценного микробного сообщества в техногенных субстратах является актуальной проблемой. Одним из методов ускорения процессов деструкции углеводов может стать интродукция в очищаемый объект совместно с микроорганизмами – нефтедеструкторами бактерий растений, способствующих стимуляции жизнедеятельности всего микробного сообщества [2].

Нами проводился вначале посев в экспериментальный грунт растений-фиторемедиантов в виде смеси семян бобовых и злаковых растений, а затем в этот же грунт вносилась суспензия клеток *Pseudomonas*, при этом обработку грунта осуществляют до достижения концентрации суспензии, равной $1-3 \times 10^7$ клеток/г в слое до глубины 10 см. Такие процедуры были призваны повысить эффективность фиторемедиации [3].

Следует сказать, что из современных методов очистки окружающей среды от нефтяных углеводородов технология фито- и биоремедиации, т.е. использования для восстановления загрязненных объектов растений и ассоциированных с ними микроорганизмов, является наиболее привлекательной, поскольку она обеспечивает устойчивый процесс очистки, благодаря высокому адаптационному потенциалу и мутуалистическим отношениям растений и микроорганизмов, не требует высоких энергозатрат, т.к. управляется солнечной энергией, используемой в процессе фотосинтеза, и, как следствие, является экономически выгодным и эстетически привлекательным способом очистки загрязненных объектов.

Исследования по изучению фиторемедиации почв, загрязненных углеводородами нефти, проводились в лабораторных условиях в научно-исследовательской лаборатории института Проблем горения. Нами были заложены модельные эксперименты с 9 образцами наиболее подверженных загрязнению нефтью почв региона Западного Казахстана (таблица 1), повторность опытов – трехкратная. В качестве источников углерода для микроорганизмов и растительного сырья добавляли нефть, толуол и декан в количестве 2, 5 и 10 мл на 1 чашку Петри. Количествен-

Таблица 1 – Биокультурные образцы, изученные в условиях лабораторно-микрочисловых опытов

№	Образцы
1	Незагрязненная почва (контроль)
2	Почва + микроорганизмы
3	Почва + растительная культура
4	Почва + углеводороды
5	Почва + микроорганизмы + растительная культура
6	Почва + микроорганизмы + углеводороды
7	Почва + растительная культура + углеводороды
8	Почва + микроорганизмы + растительная культура + углеводороды
9	Почва + микроорганизмы + растительная культура + углеводороды (посев через 10 дней)

ный анализ содержания углеводов в среде при росте на ней биомассы определяли методом ИК-спектрометрии. Образцы сняты на Фурье ИК-спектрометре Spectrum 65.

Растения вегетировали в течение 15 дней после всходов при влажности 55-60% от наименьшей влагоемкости. В дальнейшем проводился учет свежей зеленой массы путем среза и последующего взвешивания.

На следующем этапе исследований проводилась оценка эффективности многокомпонентных посевов для фиторемедиации почв, загрязненных нефтью, в условиях вегетационного опыта.

Для изучения процессов био- и фиторемедиации почв с помощью растений и микроорганизмов проводился отбор почвенных образцов из монолитов в слое 0-10 см, в которых определялось общее содержание нефтепродуктов методом ИК-спектрометрии на приборе Spectrum 65. Кроме того, в начале и в конце исследований в почвенных образцах были определены и рассчитаны следующие показатели:

Уборка биокультур проводилась вручную в момент полного созревания. В собранном урожае учитывались: надземная масса, высота растений, масса и длины метелки.

Изучаемые типы нефтепродуктов в своем составе имеют большое количество углеводов с различной длиной цепи. В состав нефти входят низкомолекулярные ароматические компоненты с кислородными связями, нефтепродукты – полициклические ароматические углеводороды и смолисто-асфальтеновые соединения.

Спектроскопические исследования образцов, содержащих различные концентрации углеводов, после роста на них микроорганиз-

мов-нефтедеструкторов и растительных культур позволили получить интересные результаты. Установлено, что в исследуемых образцах преобладают парафиновые структуры нормального и изостроения, присутствуют также длинные парафиновые цепочки (1465, 1380, 720 см^{-1}). Отмечено наличие ароматических структур (1600 см^{-1}), но эти соединения содержатся в значительно меньших количествах, чем парафинистые. В незагрязненных контрольных образцах имеется полоса поглощения при 1638, 795 и 723 см^{-1} , которая свидетельствует о незначительной окисленности данного образца.

Оценка процессов био-, фиторемедиации показала, что в вариантах утилизации нефти и нефтепродуктов за 15 дней происходят некоторые изменения. После внесения микроорганизмов и растений в ИК-спектрах имеются полосы поглощения (валентные и деформационные колебания 1377, 1384, 1439, 1447, 1632, 2851, 2917, 2922, 2954 см^{-1} группы CH_2 - и CH_3 -) алифатического строения. Интенсивность этих характеристических полос поглощения по сравнению с исходными понижается. Слабую полосу в интервале (1463, 1603 см^{-1} группы бензольных колец) можно отнести к поглощению. В спектрах также имеются широкие полосы в диапазоне 1032, 1073, 1122, 1273 см^{-1} за счет поглощения различных кислородсодержащих соединений (C-O, C-O-C) спиртов, эфиров и сложных эфиров, которые являются промежуточными продуктами метаболизма при микробном окислении *n*-парафинов. Полоса поглощения при 1730 см^{-1} может также рассматриваться как признак наличия кислородных соединений.

Таким образом, методы фито- и биоремедиации могут быть использованы для очистки почв

или грунтов от загрязнения углеводородами во всех отраслях промышленности, связанных с добычей, транспортировкой, переработкой или хранением нефти и нефтепродуктов, а также при

ликвидации последствий их аварийных разливов. Способ может быть применен для очистки почвы и грунта с концентрацией углеводородов до 30 г/кг.

Литература

1 Халимов, Э.М., Левин, С.В., Гузев, В.С. Экологические и микробиологические аспекты повреждающего действия нефти на свойства почвы // Вестн. Моск. ун-та. Сер. почвоведение. - 1996. - № 2. - С. 59-64.

2 Zhang B.Y., Zheng J.S., Sharp R.G. Phytoremediation in Engineered Wetlands: Mechanisms and Applications // Procedia Environmental Sciences 2 (2010) 1315–1325.

3 Онгарбаев Е.К., Досжанов Е.О., Мансуров З.А. Переработка тяжелых нефтей, нефтяных остатков и отходов. – Изд. 2-е, допол. – Алматы: Казак университети, 2011. – 254 с.

References

1 Halimov, Je.M., Levin, S.V., Guzev, V.S. Jekologicheskie i mikrobiologicheskie aspekty povrezhdajushhego dejstvija nefti na svojstva pochvy // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. pochvovedenie. - 1996. - № 2. - S. 59-64.

2 Zhang B.Y., Zheng J.S., Sharp R.G. Phytoremediation in Engineered Wetlands: Mechanisms and Applications // Procedia Environmental Sciences 2 (2010) 1315–1325.

3 Ongarbaev E.K., Doszhanov E.O., Mansurov Z.A. Pererabotka tjazhelyh neftej, neftjanyh ostatkov i othodov. – Izd. 2-e, dopol. – Almaty: Kazaak universiteti, 2011. – 254 s.