

М.А. НАЗАНОВА, П.С. УАЛИЕВА, А.А. ЖҰБАНОВА

**МҰНАЙМЕН ЛАСТАНҒАН ТОПЫРАҚТАН БӨЛІНІП АЛЫНҒАН
МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ БЕЛСЕНДІЛІГІН АНЫҚТАУ**

(Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті)

Бұл жұмыста Атырау облысының мұнаймен ластанған топырағынан көмірсутегін тотықтырушы белсенді бес штамм бөлініп алынды. Бұл штамдардың морфолого-дақылдық, физиолого-биохимиялық қасиеттерін зерттей келе, олардың мұнай және мұнай өнімдерін ыдырататын бірден бір микроорганизмдер екені қарастырылған.

Қазіргі таңда мұнай және мұнай өнімдерін кең көлемде өндіру, тасымалдау, өңдеу барысы қоршаған ортаның ластануына әкеліп соғуда /1/.

Қоршаған ортаға түскен мұнай көмірсутектері табиғи ландшафтардың биологиялық түрлілігін өзгертеді. Сонымен қатар, техногенді аумақтардың ұлғаюына, өсімді қабаттың тежелуіне, топырақтың беткі қабатының микрорельефін, гидрологиялық режимін және аэрацияның бұзылуына душар етеді /2/.

Мұнаймен ластанған топырақтарды тазалау процесі экологиялық таза, әрі экономикалық жағынан тиімді, ауыл шарушылық жерлердің құнарлығын арттыру үшін, қалпына келтіретін және көмірсутектердің интенсификациясына бағытталған әдістерді талап етеді. Қазіргі таңда ең тиімді әдіс болып биоремедиация саналады. Биоремедиация – минералды тұздардан, кант, ферменттерден тұратын биогенді қоспасымен қатар, көмірсутек тотықтырушы микроорганизмдерден құралған препараттарды қолдану арқылы мұнаймен ластанған топырақ және суларды тазалау болып табылады. Сондықтан осындай мәселелерді шешу барысында, мұнай тотықтырушы микроорганизмдерді таза күйінде бөліп, олардың көмірсутек көздерін ыдырату қасиеттерін зерттеудің маңызы өте зор, әрі қазіргі таңдағы ғаламдық мәселелердің бірі болып отыр /3-5/.

Жұмыстың мақсаты: Атырау облысының мұнаймен ластанған топырағының микробтық құрамын анықтау, мұнай көмірсутектерін белсенді тотықтыратын микроорганизмдер штамдарын бөліп алу және идентификациялау.

ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

Жұмысымызда Атырау облысының Тереңөзек кен орындарының №68 ұңғысының 2-ші аймағынан алынған мұнаймен ластанған топырақ үлгілері пайдаланылды.

Әр түрлі микроорганизм түрлерін бөлу мақсатында бірнеше қоректік орта түрлері таңдалынып алынды. Олар: гетеротрофтылар үшін ЕПА, актиномицеттер мен бактериялар үшін Чапека, азотобактерлер үшін Эшби, ашытқылар мен спора түзушілер үшін СА орталары алынды. Дақылдау температурасы 29⁰С термостатта жүргізілді. Дақылдану мерзімі әр культура үшін әртүрлі болды. Сусло агар және ЕПА қоректік орталарында 3 тәулік, Эшби және Чапека қоректік орталарында 7 тәулік дақылданады.

Жұмыс барысында бөлініп алынған көмірсутегін тотықтыратын микроорганизмдер пайдаланылды. Олардың морфологиялық, биохимиялық, физиологиялық қасиеттерін зерттеп, Берджи анықтамасы бойынша идентификациялау жүргізілді.

Штамдардың аэрация барысындағы мұнай және мұнай өнімдерінің синтетикалық Е8 сұйық қоректік ортасында ыдыратуын байқадық. Көміртегі көздері ретінде 2 г/л концентрацияда мұнай және мұнай өнімдері: дизельді жанармай, бензин, мазут, толуол қолданылды.

Сұйық синтетикалық ортада дақылдар аэрация барысында (220 айн/мин) шайқағышта 10 тәулік өсірдік. Өсу динамикасы нефелометриялық әдіспен КВК 2МП фотоколориметрде стандартты кюветаларда 540 нм толқын ұзындығында бақыланды.

АЛЫНҒАН НӘТИЖЕЛЕРДІ ТАЛДАУ

Бөлініп алынған дақылдардың морфологиялық, дақылдық және физиолого-биохимиялық белгілері жалпы қабылданған әдістер бойынша тексерілді /6/.

Біздің жұмысымызда мұнай ыдыратушы микроорганизмдердің белсенді штамдарын іріктемелі әдіс арқылы 5 штамм бөлініп алынды және олар шартты түрде *KR7*, *KR9*, *KR11*, *KR15*, *KR17* белгіленді.

KR7, *KR9*, *KR11*, *KR17* штамдарының клеткалары таяқша тәріздес формалы, грам теріс, спора түзбейді, бір сызық бойымен қозғалады, жеке-жеке орналасқан. Осы белгілер бойынша штамдар *Pseudomonas* туысына жатқызылды. *KR15* штамының клеткалары – грам теріс, сфера тәріздес, спора түзбейтін, микроскопиялық препаратта бұрыс жиынтық түзген, морфологиялық белгілері негізінде *Micrococcus* туысына жатқызылды.

Берджи анықтамасы бойынша мұнай ыдыратушы белсенді штамдар идентификацияланып, төмендегідей түрлерге жатқызылды /7/:

1. *Pseudomonas pseudoalkoligenes* KR-7
2. *Pseudomonas putida* KR-9
3. *Pseudomonas alkoligenes* KR-11
4. *Micrococcus roseus* KR-15
5. *Pseudomonas alkoligenes* KR-17

Бөлінген штамдардың түрлі мұнай өнімдерінде: дизельді жанармайда, керосинде, бензинде, мазутта және толуолда (кесте-1) өсуі зерттелінді.

1 - кесте

Бактерия дақылдарының мұнай өнімдерінде өсуі

Дақыл	Дизельді отын	Керосин	Мазут	Толуол	Бензин
<i>Pseudomonas alkoligenes</i> KR-17	+++	+++	++	++	+++
<i>Pseudomonas alkoligenes</i> KR-11	+++	+++	++	++	+++
<i>Micrococcus roseus</i> KR-15	+++	+++	++	+++	+++
<i>Pseudomonas pseudoalkoligenes</i> KR-7	+++	+++	+++	++	+++
<i>Pseudomonas putida</i> KR-9	++	+++	+++	+	+++
Ескертпе: Өсу қарқындылығы: +++ - қарқынды өсу, ++ - қалыпты өсу, + - әлсіз өсу					

Кестеде көрсетілгендей, бактериалды штамдар көміртек көздерінің барлығында өсу қабілеттері жоғары болды, тек KR9 штамы толуолды әлсіз пайдалануы байқалды.

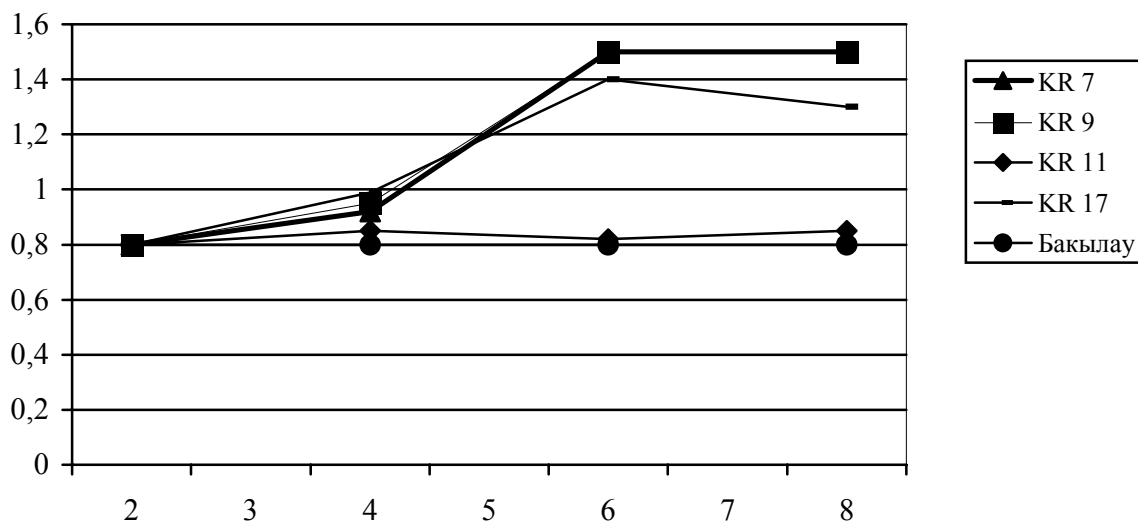
Штамдардың азрация барысында мұнай және мұнай өнімдері бар синтетикалық коректік ортада өсу динамикасын байқадық. Көміртек көздері ретінде дизельді отын, мұнай және бензин қолданылды. Тәжірибені 10 күн бойына тербелмеге (220айн/мин) қойдық. Нәтижесінде әрбір штамм көміртек көздерін белсенді түрде ыдырататындығын байқадық. Тәулік сайын оптикалық тығыздығын тексере отырып олардың сызбаларын тұрғыздық (1, 2, 3-суреттер).

1-суретте көрсетілгендей, төртінші тәулікте *Pseudomonas pseudoalkoligenes* KR7, *Pseudomonas putida* KR9, *Pseudomonas alkoligenes* KR17 штамдары мұнай және мұнай өнімдерін ыдырата бастады.

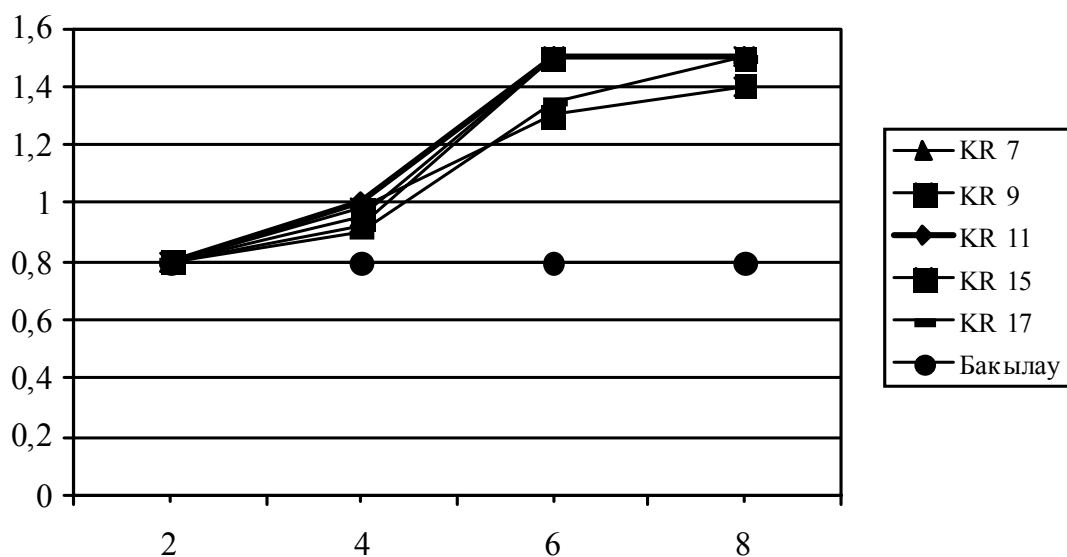
Pseudomonas pseudoalkoligenes KR7, *Pseudomonas putida* KR9, *Pseudomonas alkoligenes* KR17, *Micrococcus roseus* KR15, *Pseudomonas alkoligenes* KR11 штамдарының бензині бар ортада жақсы өскендігін байқадық (2-сурет).

3-суретте көрсетілгендей, дақылдардың дизельді жанармайы бар ортада өсу динамикасы бойынша, *Pseudomonas pseudoalkoligenes* KR7, *Pseudomonas putida* KR9, *Pseudomonas alkoligenes* KR17 штамдарының ыдырату қарқындылығы өте жоғары.

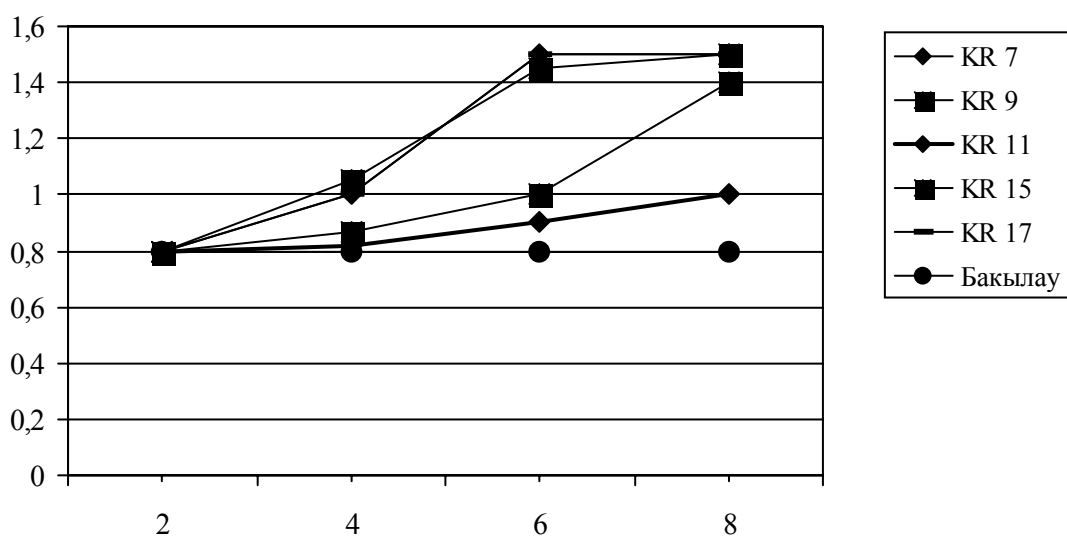
Зерттелініп отырған штамдардың мұнай ыдыратушы белсенділігін толықтай байқау үшін, дақылдары бар колбаларды тәжірибеге қоймас бұрын және тәжірибе аяқталған соң суретке түсірдік (4-сурет).



1-сурет. Дақылдардың мұнайы бар ортада өсу динамикасы



2-сурет. Дақылдардың бензині бар ортада өсу динамикасы



3-сурет. Дақылдардың дизельді жанармайы бар ортада өсуі



а



б

4-сурет. *Micrococcus roseus* KR15 штамының мұнай және мұнай өнімдерін ыдырату белсенділігін тәжірибеге дейінгі (а) және кейінгі (б) суреттері көрсетілген.

Мұндағы, суреттің сол жағынан қарағанда, бірінші колбада – бензин, екінші колбада – мұнай, үшінші колбада – дизельді жанармайы бар орта

Көмірсутегін тотықтырушы бактериялардың мұнай және мұнай өнімдерінде өсу динамикасы зерттелінді. Мұнай ыдыратушы белсенді штамдардың барлығы мұнайы бар ортада жақсы өскендігі байқалды. Сонымен, бөлініп алынған штамдар мұнай және мұнай өнімдерін ыдыратушылар ретінде мұнаймен ластанған объектілерді биоремедиациялау үшін практикалық қолданысқа ұсынуға болады.

ӘДЕБИЕТТЕР

1. Назина Т.Н., Турова Т.П. и др. Физиологическое и филогенетическое разнообразие термофильных спорообразующих углеводородоокисляющих бактерий из нефтяных пластов. // Микробиология. 2000. Т.69. №1. С. 113-119.
2. Нестеренко О.А., Квасников Е.И., Ногина Т.М. Нокардиоподобные и коринеподобные бактерии // Киев: Наукова думка. 1985. С. 1-334.
3. Айткельдиева С.А., Курманбаев А.А. Способы биологического восстановления нефтезагрязненных почв // Нефть и газ. – 2007. - №1. - С.113-124.
4. Морозов Н.В., Петров Г.Н. и др. Исследования самоочищения водоемов от нефти под влиянием водной растительности и микроорганизмов в Среднем Поволжье. – М., 1973.
5. Алехин В.Г., Емцев В.Т., Рогозина Е.А., Фахрутдинов А.И. Биологическая активность и микробиологическая рекультивация почв, загрязненных нефтепродуктами // Биологические ресурсы и природопользование: сб. науч. тр. Пед. ин-та. – Нижневарт., 1998. - Вып. – С. 95 – 105.
6. Ворошилова А.А., Дианова Е.В. Окисляющие нефть бактерии – показатели интенсивности биологического окисления нефти в природных условиях. – Микробиология, 1952, С. 21-29.
7. Определитель бактерий Берджи. Мир. 1997. С.157, 160, 173, 630-631, 643-644.

В работе было выделено 5 наиболее активных штамма углеводородоокисляющих бактерии из нефтезагрязненной почвы Атырауской области. Изучая морфолого-культуральные, физиолого-биохимические свойства данных штаммов, была доказана их углеводородоокисляющая активность.

In this work 5 most active strains of hydrocarbon oxide bacteria have been allocated from the petropolluted soil of Atyrau area. Studying morphology-culturally, physiology-biochemical properties of these strains, has been proved their hydrocarbon oxide activity.