

УДК 606:62:628.16.08:579.5

А.Н. Гайыпбаева, Г.Ж. Абдиева

Казахский национальный университет имени аль-Фараби,
факультет биологии и биотехнологии кафедры биотехнологии, Казахстан, г. Алматы
e-mail: gera__love@mail.ru

Выделение и характеристика нефтеокисляющих микроорганизмов из нефтезагрязненных почв Западного Казахстана

Нами были выделены нефтеокисляющие микроорганизмы на разработанной нами агарозной среде с эмульгированной Тритон X-100 нефти. Установлено что деструкция нефти осуществляется не одним видом микроорганизма, а целым их консорциумом. Изучение консорциума нефтеокисляющих микроорганизмов показало наличие представителей следующих родов: *Bacillus*, *Micrococcus*, различные микромицеты и дрожжи подобные микроорганизмы.

Ключевые слова: нефтеокисляющие микроорганизмы, консорциум, агарозная среда, детергент Тритон X-100, *Bacillus*, *Micrococcus* микромицеты.

А.Н. Гайыпбаева, Г.Ж. Абдиева

Батыс Қазақстанның мұнаймен ластанған жерінен мұнай тотықтыратын микроорганизмдерді алу және оларды сипаттау

Тритон X-100 мен эмульцияланған мұнай агар орта арқылы мұнай тотықтыратын микроорганизмдер алу әдісі шығарылды. Мұнай тотықтыру процессін жалғыз микроорганизм түрі емес, тұтас микроорганизм консорциумы боп атқара алады. Мұнай тотықтырушы микроорганизм консорциумында келесі микроорганизмдер анықталды: *Bacillus*, *Micrococcus* туыстының өкілдері және әртүрлі микромицеттер мен ашытқы тәріздіс микроорганизмдер анықталды.

Түйін сөздер: мұнай тотықтырушы микроорганизмдер, консорциум, агарозды орта, эмульгатор Тритон X-100, *Bacillus*, *Micrococcus* микромицеттер.

A.N. Gayyipbaeva, G.Zh. Abdieva

Isolation and characterization of the oil oxidizing microorganisms from oil polluted soils of the West Kazakhstan

We isolated oxidizing microorganisms on developed by us agar medium which contains oil emulgated by Triton X-100. It was established that oil destruction is carried out by microorganisms consortium but not single species. The study of microorganisms composition consortium showed that there are representatives of the next genera: *Bacillus*, *Micrococcus*, micromycetes, and yeasts.

Key words: oil oxidizing microorganisms, consortium, agar medium, emulgator Triton X-100, *Bacillus*, *Micrococcus*, micromycetes.

Введение

Почвы Западного Казахстана сильно загрязнены нефтью и нефтепродуктами в результате бурного развития нефтедобычи и нефтеперерабатывающей промышленности [1,2]. Масштабы нефти загрязнения приобретают очень большие размеры. В результате всего этого быстро загрязняются, и деградирует большие земельные

площади. Все это диктуют необходимость восстановления плодородие нефтезагрязнённых почв. В этом плане большую перспективу будут иметь применение препаратов эффективных нефтеокисляющих микроорганизмов выделенных из нефтезагрязненных почв аридной зоны Западного Казахстана [3]. Так как эти микроорганизмы приспособлены химизму почв и конкрет-

ным эколого-климатическим условиям данного региона. Для рекультивации и восстановления плодородия нефтезагрязненных почв [4,5].

Исходя из выше сказанного целью нашего исследования явилась выделение и характеристика эффективного комплекса микроорганизмов способного эффективно окислять нефть и нефтепродукты [6]. Полученные из этого комплекса препараты микроорганизмов можно бу-

дет с успехом использовать для биоремедиации загрязненных почв Казахстана.

Материалы и методы

Отбор нефтезагрязненной почвы проводили с помощью стерильной лопаточкой с глубины не более 20 см в слоях почвы пропитанной нефтью.

Выделение нефтеокисляющих микроорганизмов проводили на агаризованной среде. При

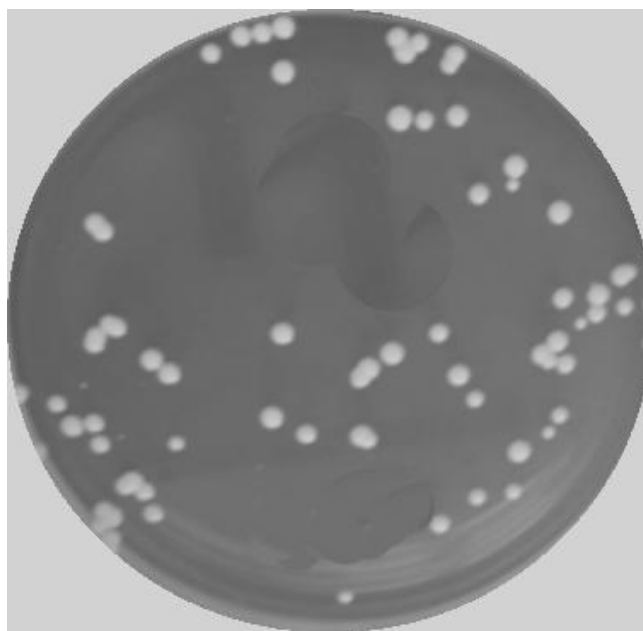


Рисунок 1 – Выделение нефтеокисляющих микроорганизмов на разработанной нами агарозной среде с эмульгированной Тритон X-100 нефти

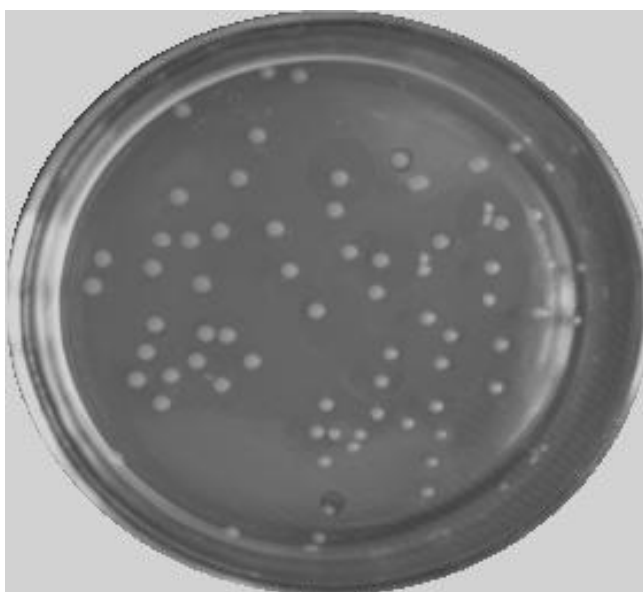


Рисунок 2 – Выделение нефтеокисляющих микроорганизмов на разработанной нами агарозной среде с эмульгированной Тритон X-100 нефти

приготовлении твердой агаризованной питательной среды содержащий нефть необходимо иметь ввиду то что, нефть не растворится в агаризованной среде. Поэтому для получения однородной эмульсии нефти в агаризованной среде в нее необходимо добавить 1% эмульгатор-детергент Тритон Х100. Если же нефть наливать прямо в чашки Петри с агаризованной средой без добавления детергента, то рост микроорганизмов практически не наблюдался. Таким образом, становится ясно, что нефть необходимо полностью эмульгировать с помощью детергентов (поверхностно-активного вещества) что позволяет полностью распределить суспензии нефти по всему объему агаризованной среды. Именно, только на такой твердо агаризованной среде можно выделять и изучать нефтеокисляющие микроорганизмы.

Полученную однородную суспензию автоклавируют при 121°C 20 мин. Однородную автоклавированную суспензию разливают по чашкам Петри. Затем в эти чашки Петри в стерильном условии высевают микроорганизмы, выделенные из нефтезагрязненных почв Западного Казахстана. Чашки Петри микроорганизмами помещали в термостат и микроорганизмы выращивали при 25°C в течении 7 суток. Через 7 суток проводили подсчет выросших колоний.

Результаты исследований и их обсуждение

Проведенная нами эксперименты показали, что на самой нефти микроорганизмы не растут, поэтому имеется необходимость эмульгировать нефть с помощью поверхностно-активного вещества. Наилучшим эмульгатором нефти явился детергент 1 % Тритон Х-100. Поэтому все дальнейшие эксперименты мы проводили в агаризованной среде содержащий нефть эмульгированную 1 % Тритон Х-100. На рисунке 1,2 представлены результаты выращивания колонии нефтеокисляющих микроорганизмов на разработанной нами среде. Как видно из рисунка на разработанной нами агаризованной среде наблюдается рост целого ряда колоний различных микроорганизмов.

В результате проведенного исследования, что нефтеокисляющие способности обладают различные группы микроорганизмов: представители рода *Bacillus*, *Micrococcus* различные микромицеты и дрожжи подобные микроорганизмы.

Таким образом нами установлено что деструкция нефти осуществляется не одним микроорганизмом, а целым консорциумом что по

всей вероятности связано с тем что этот процесс требует привлечение различных по своему химизму окислительных процессов видов микроорганизмов [7].

Так как нефть является алифатическим трудно окисляемым веществом то поэтому процесс деструкции является сложным и многоступенчатым процессом и поэтому он требует ни одного, а целого ряда различных микроорганизмов которого мы называем консорциумом. Рассмотрим этот процесс деструкции более детально. Особенностью нефти является сильно восстановленным веществом, а второй важнейшей характеристикой нефти является ее гидрофобность. Поэтому нефть окисляющие микроорганизмы с одной стороны должны, каким то образом перевести нефть более окисленное состояние, а другой стороны должны обладать хорошей эмульгирующей способности [8]. Для окисления нефти различные виды микроорганизмы используют различные акцепторы, например: кислород, нитраты или сульфаты. Поэтому процесс окисления осуществляется различными видами микроорганизмами, а не одним. Все реакции микробиологического превращения углеводородов являются окислительными процессами [9]. Для биодegradации необходимо наличие в среде электронных акцепторов: в аэробных условиях – кислорода, в анаэробных -нитратных и сульфатных соединений.

Окисление нефти микроорганизмами осуществляется сложными ферментными системами, которые в себе включают оксигеназ, дегридрогеназ и гидролаз. Окисления нефти состоит из следующих этапов: дегидрирование и окисление алифатических и ароматических групп и их гидроксильное. И гидролиз продукта распада. Биохимические процессы дегradации нефти с участием микроорганизмов включают в себя несколько типов ферментных реакций на основе оксигеназ.

Выводы

Нами были выделены нефтеокисляющие микроорганизмы на разработанной нами агарозной среде с эмульгированной Тритон Х-100 нефти.

Установлено что деструкция нефти осуществляется не одним видом микроорганизма, а целым их консорциумом.

Изучение консорциума нефтеокисляющих микроорганизмов показало наличие представителей следующих родов: *Bacillus*, *Micrococcus*, различные микромицеты и дрожжи подобные микроорганизмы

Литература

- 1 Охрана экосистемы северного Каспия <http://www.newreferat.com/ref-24707-3.html>
- 2 ИТЦ «СКАНЭКС»: суда — главный источник нефтезагрязнений Северного Каспия? <http://www.gisa.ru/85562.html>
- 3 Биоремедиация нефтезагрязненных почв <http://bioengineering.kz/index.php/services/bioremed>
- 4 Биоремедиация как основа восстановления нефтезагрязненных почв <http://www.ecologylife.ru/utilizatsiya-2001/bioremediatsiya-kak-osnova-vostranovleniya-neftezagryaznennyih-pochv.html>
- 5 Совершенствование технологии биоремедиации нефтезагрязненных почв <http://www.dissercat.com/content/sovershenstvovanie-tehnologii-bioremediatsii-neftezagryaznennykh-pochv>
- 6 Способ биоремедиации почв и грунтов, загрязненных нефтью и нефтепродуктами <http://ru-patent.info/21/90-94/2193464.html>
- 7 Окисление углеводородов <http://bookucheba.com/pischevaya-promyishlennost-knigi/okislenie-uglevodorodov-24624.html>
- Роль микроорганизмов в процессе увеличения нефтеотдачи. <http://www.ipc.tsc.ru/proekts/1/10/index.htm>
- 9 Разнообразие микроорганизмов – продуцентов поверхностно-активных веществ http://www.rusnauka.com/15_APSN_2010/Biologia/67379.doc.htm

Reference

- 1 Protection of ecosystems of the northern Caspian <http://www.newreferat.com/ref-24707-3.html>
- 2 ITC “ RDC “ : Court of Justice – the main source of oil pollution in the Northern Caspian ? <http://www.gisa.ru/85562.html>
- 3 Bioremediation of contaminated soils <http://bioengineering.kz/index.php/services/bioremed>
- 4 Bioremediation as a basis for recovery of oil-contaminated soil <http://www.ecologylife.ru/utilizatsiya-2001/bioremediatsiya-kak-osnova-vostranovleniya-neftezagryaznennyih-pochv.html>
- 5 Improving technology for bioremediation of contaminated soils <http://www.dissercat.com/content/sovershenstvovanie-tehnologii-bioremediatsii-neftezagryaznennykh-pochv>
- 6 METHOD bioremediation of soils and soil contaminated with petroleum and petroleum products <http://ru-patent.info/21/90-94/2193464.html>
- 7 Oxidation of hydrocarbons <http://bookucheba.com/pischevaya-promyishlennost-knigi/okislenie-uglevodorodov-24624.html>
- 8 Role of microorganisms during EOR . <http://www.ipc.tsc.ru/proekts/1/10/index.htm>
- 9 Diversity of microorganisms – PRODUCERS SURFACTANTS http://www.rusnauka.com/15_APSN_2010/Biologia/67379.doc.htm