ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

ИЗУЧЕНИЕ ДЕСТРУКЦИИ И ТРАНСФОРМАЦИИ НЕФТИ И НЕФТЕПРОДУКТОВ БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ИЗОЛЯТАМИ

Дьякова С.А.¹, Карыгина Н.В.¹, Сопрунова О.Б.²

¹ Волжско-Каспийский филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (КаспНИРХ), Астрахань,

E-mail: djakova.s.a@gmail.com; nkarygina25@yandex.ru

² Астраханский государственный технический университет, Астрахань, E-mail: soprunova@mail.ru

В статье представлены результаты исследований перспективных аборигенных каспийских бактериальных изолятов – деструкторов нефти. Трансформацию и деградацию нефти исследуемыми изолятами оценивали флуориметрическим методом и методом ИК-фотометрии. Наибольшей деструктирующей способностью обладал изолят 2, а изолят 3 способен разрушать полиароматические углеводороды. Изолят 1 проявил максимальную эмульгирующую активность по отношению к керосину, а изолят 2 – по отношению к дизельному топливу.

Ключевые слова: микроорганизмы, деструкция нефти, биоремедиация, Каспийское море

STUDY OF DESTRUCTION AND TRANSFORMATION OF OIL AND OIL PRODUCTS BY BACTERIAL ISOLATES

Dyakova S.A.¹, Karygina N.V.¹, Soprunova O.B.²

¹ Volga-Caspian branch of Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (Caspian Fisheries Research Institute), Astrakhan

E-mail: djakova.s.a@gmail.com; nkarygina25@yandex.ru

² Astrakhan State Technical University, Astrakhan, E-mail: soprunova@mail.ru

The article presents the results of studies of promising indigenous Caspian bacterial isolates - oil destructors. The transformation and degradation of oil by the studied isolates was evaluated by the fluorimetric method and IR photometry. The highest destructive ability was possessed by isolate 2, and isolate 3 is able to destroy polyaromatic hydrocarbons. Isolate 1 showed maximum emulsifying activity in relation to kerosene, and isolate 2 - in relation to diesel fuel.

Keywords: microorganisms, oil destruction, bioremediation, Caspian Sea

Поступила в редакцию: 4.07.2019

DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-3-253-256](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-3-253-256)

В настоящее время проблема нефтяного загрязнения актуальна для всех регионов, где ведется добыча и транспортировка углеводородного сырья. Акватория Каспийского моря подвержена сильнейшей антропогенной нагрузке ввиду активной добычи и транспортировки нефти и судоходства. Несмотря на наличие механизмов самоочищения моря, в экстренных ситуациях необходимо применение дополнительных мер для ликвидации нефтяного загрязнения. Одним из наиболее перспективных способов устранения поллютантов является биоремедиация акватории с помощью метаболического потенциала микроорганизмов [Куликова, 2008, Струппуль, 2009]. Использование микробных препаратов является наиболее безопасным способом ликвидации последствий нефтяного загрязнения. В настоящее время изучено множество микроорганизмов-нефтедеструкторов [Бутаев, 2002, Гриднева, 2010, Ильинский, 2000], однако наибольшую перспективу имеют бактерии, выделенные из конкретной нефтегазовой провинции, адаптированные к местным условиям жизнедеятельности [Сопрунова, 2008, 2014].

В связи с этим, актуальным является поиск и изучение автохтонных микроорганизмов, осуществляющих утилизацию и трансформацию углеводов, входящих в состав нефти и нефтепродуктов.

Целью данного исследования являлось изучение способности автохтонных микроорганизмов Каспийского моря утилизировать нефтяные углеводороды (УГВ). Объектом исследования служили три бактериальных изолята, способных использовать нефть в качестве единственного источника углерода, по морфологическим и физиолого-биохимическим признакам отнесенные к двум видам рода *Pseudomonas* (изоляты 1 и 2) и нокардиоподобным актиномицетам (изолят 3). Деградацию нефти исследуемыми изолятами оценивали по изменению массового содержания углеводородов различных классов с использованием двух методов – флуориметрии, которая позволяет определить, в основном, количество полиароматических углеводородов (ПАУ), и ИК-спектрометрии, позволяющей определить массовую концентрацию, в основном, алифатических углеводородов [Немировская, 2004], по зависимости интенсивности поглощения С-Н связей. Для флуориметрии использовали анализатор жидкости «Флюорат-02-3М» [ПНД Ф 14.1:2:4.128-98, 2012], для ИК-спектрометрии – концентратометр КН-2 [ПНД Ф 14.1:2:4.273-2012, 2012]. В ходе эксперимента по определению микробной убыли нефти производили культивирование микроорганизмов в колбах, содержащих среду Теппер (г/л: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ – 2,1; KH_2PO_4 – 0,6; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1,2; Na_2HPO_4 – 0,9; NaCl – 6,0; KH_2PO_4 – 0,9; KNO_3 – 6,0) и нефть в количестве 1 %. Бактериальные изоляты добавляли в количестве 1 мл численностью $1,23 \pm 0,17$ млрд КОЕ/мл. Контролем служила стерильная морская вода с нефтью без внесения микроорганизмов. Инкубирование производили на мешалке при 180 об/мин и температуре 28 °С в течение 7 суток. Для выявления способности выделенных бактерий к синтезу биосурфактантов определяли индекс эмульгации [Соопер, 1987].

Результаты исследований показали, что все выделенные изоляты способны к деструкции нефти (рис. 1). Процент убыли углеводородов полиароматического ряда с использованием изолятов 1 и 2 превышал значение контроля незначительно, с использованием изолята 3 – более, чем в 2 раза (рис. 1). Массовая концентрация алифатических углеводородов под действием всех изучаемых изолятов существенно снижалась по сравнению с контролем (в 1,8-1,9 раза), убыль УГВ была практически одинаковой.

Рис. 1. Деградация нефти бактериальными изолятами

Отмечено, что степень деструкции УГВ, определяемых методом ИК-спектрометрии различными изолятами 1, 2 и 3 постоянна (51-53%), в то время как на деструкцию ПАУ способен преимущественно изолят 3 (свыше 40%). По-видимому, данный изолят обладает специфическим комплексом ферментов, способных утилизировать полиароматические соединения, в то время как изоляты 1 и 2 используют в качестве источника питания другие нефтяные соединения.

Механизм утилизации нефтяных углеводородов оценивали по способности бактериальных изолятов к эмульгирующей активности (рис.2).

Рис. 2. Эмульгация нефтепродуктов бактериальными изолятами

Исследования показали, что изолят 3 не обладает способностью к синтезу биосурфактантов. Вероятно, изолят 3 обладает набором ферментов, позволяющих использовать нефтяные углеводороды в качестве источника энергии, не прибегая к их дисперсии. Изолят 1 проявил максимальную эмульгирующую активность по отношению к керосину, а изолят 2 – по отношению к дизельному топливу (ДТ). В целом, эмульгирующие свойства ярче выражены у изолята 1 (до 71,05%).

Таким образом, исследование деструкции нефти бактериальными изолятами показало, что все выделенные изоляты способны к активной деструкции нефти. Они могут утилизировать наиболее сложные полиароматические углеводороды, что, наряду со способностью трансформировать нефтепродукты за счет синтеза биосурфактантов, определяет их как перспективные объекты дальнейших микробиологических исследований с целью создания эффективного биопрепарата для борьбы с нефтяным загрязнением морской акватории.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куликова И.Ю. Держинская И.С. Микробиологические способы ликвидации последствий аварийных разливов нефти в море // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2008. № 5. С. 24-29.

2. Струппуль Н.Э., Сигида Е.А., Трофименко Н.Н., Коломеец Е.Р., Снопкова Н.А., Дворник А.А. Исследование нефтеокисляющей способности морских микроорганизмов *Pseudoalteromonascitrea*, *Pseudoalteromonaselyakovii* и *Oceanisphaeralitoralis* // Электронный научный журнал «Нефтегазовое дело». 2009. № 2. С. 11.
3. Бутаев А.М., Кабыш Н.Ф. О роли углеводородокисляющих микроорганизмов в процессе самоочищения прибрежных вод // Вестник Дагестанского научного центра РАН. 2002. № 11. С. 44-51.
4. Гриднева В.В., Куликова И.Ю. Аборигенные углеводородокисляющие микроорганизмы в биоремедиации Северного Каспия от нефтяного загрязнения // Юг России: экология, развитие. 2010. № 4. С. 78-80.
5. Ильинский В.В. Гетеротрофный бактериопланктон: экология и роль в процессах естественного очищения среды от нефтяных загрязнений :автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.00.18. М., 2000. 53 с.
6. Сопрунова О.Б., Ключанова М.А. Эколого-физиологические особенности бактериальных штаммов, изолированных из нефтезагрязненных экосистем Нижнего Поволжья // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2008. №5. С. 64-68.
7. Сопрунова О.Б., Слуцкий А.И., Бабаназаров С.А. Эколого-физиологические особенности представителей бактериобентоса Северного Каспия // Геология, география и глобальная энергия. 2014. №3 (54). С. 165-168.
8. Немировская И.Н. Углеводороды в океане (снег-лед-вода-взвесь-донные осадки) М.: Научный мир, 2004. 328 с.
9. ПНД Ф 14.1:2:4.273-2012 (ФР.1.31.2006.02410) «Методика измерений массовой концентрации нефтепродуктов и жиров (при их совместном присутствии) в питьевых, природных и очищенных сточных водах методом ИК-спектрофотометрии с применением концентратометров серии КН». Москва, 2012.
10. ПНД Ф 14.1:2:4.128-98 Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовой концентрации нефтепродуктов в пробах природных, питьевых, сточных вод флуориметрическим методом на анализаторе жидкости «Флюорат-02». Москва, 2012. 35 с.
11. Cooper D., Goldenberg B. Surface-active agents from two *Bacillus* species // Applied and environmental microbiology. 1987. V. 53, № 2. P. 224-229.