

УДК 579.87.014:576.52

Думанська Т. У., Ногіна Т. М., Підгорський В. С.

ПРЕПАРАТ ДЛЯ ОЧИЩЕННЯ ДОВКІЛЛЯ ВІД НАФТОВИХ ЗАБРУДНЕНЬ НА ОСНОВІ *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS*, *GORDONIA RUBROPERTINCTUS* ТА *ACINETOBACTER CALCOACETICUS*

На основі природних бактеріальних штамів — активних деструкторів вуглеводнів створено препарат «Родойл», до складу якого входять *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7013, *Gordonia rubropertinctus* IMB Ac-5005 і *Rhodococcus erythropolis* IMB B-7012, оптимально підібрані мінеральні компоненти (нітроамофоска) та сорбент. Для рекультивациі ґрунтів у препараті як сорбент використовують вермикуліт, а для очищення нафтових забруднень водою — перліт «Жемчу». Препарат здатний ефективно очищати ґрунт і воду, забруднені нафтою та нафтопродуктами.

Природне очищення довкілля від нафти і нафтопродуктів може відбуватися протягом тривалого часу (10-20 років). Для інтенсифікації цього процесу широко застосовуються біологічні методи очищення забруднених вуглеводнями нафти ґрунтів і водою, засновані на використанні біопрепаратів, до складу яких входять адаптовані до забруднювача активні штами мікроорганізмів-деструкторів, мінеральні компоненти та сорбенти [1]. Це дозволяє скоротити строки відновлення природного середовища з десятків років до кількох місяців. Бактерії родів *Rhodococcus*, *Gordonia* та *Acinetobacter* належать до активних деструкторів вуглеводнів і широко використовуються для очищення довкілля від цих ксенобіотиків. Ефективність біопрепаратів для очищення довкілля від вуглеводнів нафти значною мірою залежить від складу мінеральних компонентів та властивостей використаного сорбенту, який повинен не тільки утримувати на своїй поверхні максимальну кількість бактеріальних клітин, але й адсорбувати забруднювач, створюючи тим самим мікроосередки його деструкції мікроорганізмами.

У попередніх дослідженнях нами було селекціоновано активні штами-деструктори вуглеводнів *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7013, *Gordonia rubropertinctus* IMB Ac-5005 і *Rhodococcus erythropolis* IMB B-7012, здатні окислювати н-парафіни C_{10} - C_{30} , сиру нафту, дизельне паливо, гас, солідол, газолін та інші речовини, що містять вуглеводні [2].

Метою даної роботи було створення на основі активних вуглеводеньокислюючих штамів *Rhodococcus erythropolis* IMB B-7012, *Gordonia rubropertinctus* IMB Ac-5005 і *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7013 препарату для очищення довкілля від забруднень нафтою та нафтопродуктами.

Матеріали та методи дослідження

У роботі використані штами *Rhodococcus erythropolis* IMB B-7012, *Gordonia rubropertinctus* IMB Ac-5005 і *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7013, депоновані в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України.

Ступінь деструкції нафти, дизельного палива, гасу й гексадекану та вплив мінеральних компонентів і сорбентів на ефективність деструкції

Таблиця 1. Деструкція нафти і нафтопродуктів активними штамми

Штам	Ступінь деструкції, % (7 діб)			
	Нафта 1 %	Дизельне паливо 1 %	Гас 1 %	Гексадекан 1 %
<i>R. erythropolis</i> 1MB B-7012	71,9	75,2	76,3	88,6
<i>G. rubropertinctus</i> 1MB Ac-5005	69,4	74,6	81,4	86,2
<i>A. calcoaceticus</i> 1MB B-7013	66,5	73,5	78,1	84,6
Спільне культивування	81,0	85,1	90,6	98,9

нафти досліджували на середовищі Мюнца [3], яке містило 1 % вказаних речовин. До середовища вносили суспензію клітин *A. calcoaceticus* 1MB B-7013, *G. rubropertinctus* 1MB Ac-5005 та *R. erythropolis* 1MB B-7012 окремо або у співвідношенні 1 : 1 : 1. Культивування проводили протягом 7 діб у періодичних умовах у колбах на качалках (240 об./хв) при температурі 28 °С. Сорбенти - вермикуліт та перліт «Жемчуг» додавали у кількості 1 %, а мінеральні компоненти (вуглеамонійні солі, NH₄NO₃, NaNO₃ та нітроамофоску) - у концентраціях 100, 200 та 300 мг/л за діючою речовиною, попередньо вилучаючи із середовища відповідні джерела азоту або фосфору. Для визначення якісного складу продуктів деструкції нафти парофазні зразки нафти та залишкових вуглеводнів після культивування штамів на середовищі Мюнца з 0,1 % нафти аналізували на газовому хроматографі HP-6890 на капілярній колонці FFAP (30x 0,53 x 1,0). Деструктивну активність препарату у ґрунті досліджували протягом 60 діб на модельних ділянках із використанням чорнозему звичайного. Досліди з очищення забрудненою нафтою води проводили протягом 7 діб на качалках у колбах з прісною або морською

водою. У ґрунт і воду попередньо вносили 2 % нафти. Кількість залишкових вуглеводнів визначали методом ІЧ-фотометрії [4].

Результати дослідження

Проведені дослідження показали, що штамми *R. erythropolis* 1MB B-7012, *G. rubropertinctus* 1MB Ac-5005 і *A. calcoaceticus* 1MB B-7013 відрізняються за ступенем деструкції нафти, дизельного палива, гасу та гексадекану. Нафту, дизельне паливо й гексадекан найбільш активно засвоює *Rhodococcus erythropolis* 1MB B-7012, а гас - *Gordonia rubropertinctus* 1MB Ac-5005. Спільне культивування трьох штамів збільшує ефективність деструкції вказаних нафтопродуктів на 10-15% (табл. 1).

Ефективність деструкції нафти штамми *R. erythropolis* 1MB B-7012, *G. rubropertinctus* 1MB Ac-5005 і *A. calcoaceticus* 1MB B-7013 визначали на газовому хроматографі HP-6890 після 7 діб спільного культивування штамів. Якісний склад парофазних проб вихідної нафти та нафти після культивування штамів, представлений на рисунку, свідчить про високу вуглеводеньокислюючу активність досліджуваних культур.

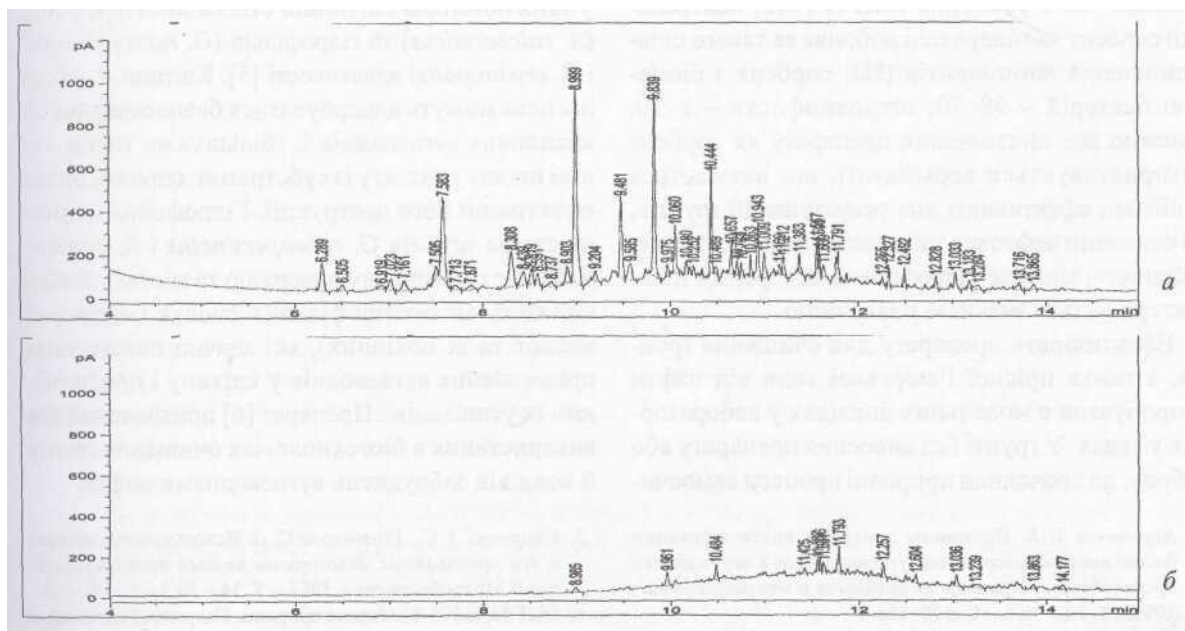


Рисунок. Деградація вуглеводнів нафти сумішшю культур: а) хроматограма парофазної проби контрольного зразка із вмістом сирої нафти 0,1 %; б) хроматограма парофазної проби після 7-добового культивування суміші культур *Rhodococcus erythropolis*, *Gordonia rubropertinctus* та *Acinetobacter calcoaceticus*

Таблиця 2. Деструкція нафти сумішшю культур при внесенні різних форм і концентрацій азотних добрив

Варіанти досліду	Концентрація азоту, мг		
	100	200	300
	Деструкція нафти, мг/л		
Суміш м/о + вуглеамонійні соли	359	420	451
Суміш м/о + аміачна селітра	389	407	421
Суміш м/о + натрієва селітра	300	332	321
Суміш м/о + нітроамофоска	396	487	520

Примітка: початковий вміст нафти дорівнював 700 мг/л.

У процесі біологічного окислення нафти важливе значення має наявність у середовищі оптимальних концентрацій азоту і фосфору, тому для більш ефективного очищення мікроорганізмами забруднених нафтою екосистем разом з ними вносять і відповідні мінеральні компоненти. Визначення впливу різних форм і концентрацій азотних добрив на активність деградації нафти сумішшю культур *R. erythropolis* IMB B-7012, *G. rubropertinctus* IMB Ac-5005 і *A. calcoaceticus* IMB B-7013 показало, що з досліджених форм азотних добрив оптимальним є нітроамофоска, яка вважається найбільш збалансованим добривом за вмістом азоту, фосфору й калію (табл. 2). При вмісті нітроамофоски 200-300 мг/л деструкція нафти була найвищою і досягала відповідно 487 та 520 мг/л, а при використанні інших азотних добрив - деструкція дорівнювала 332—451 мг/л.

На основі проведених досліджень нами створено біопрепарат, який містить бактерії *A. calcoaceticus* IMB B-7013, *G. rubropertinctus* IMB Ac-5005 і *R. erythropolis* IMB B-7012, нейтральний сорбент та мінеральні добрива за такого співвідношення компонентів (%): сорбент з біомасою бактерій - 98-70; нітроамофоска - 2-30. Залежно від призначення препарату як сорбент використовується вермикуліт, що вважається найбільш ефективним для рекультивациі ґрунтів, а в очищенні нафтових забруднень водою - перліт «Жемчуг», що має гідрофобізовану форму й характеризується значною плавучістю.

Ефективність препарату для очищення ґрунтів, а також прісної і морської води від нафти випробували в модельних дослідах у лабораторних умовах. У ґрунті без внесення препарату або добрив, де проходили природні процеси самоочи-

щення екосистеми, спостерігався найнижчий рівень деструкції, який становив лише 2,1-12,3 %. У варіанті досліду, де вносилися тільки добрива, відбувалося значне стимулювання діяльності аборигенної мікрофлори ґрунту - в кінці спостережень рівень деструкції нафти досягав 44,6 %. Найбільший ефект очищення ґрунту отримано при використанні препарату: через 60 діб спостережень деструкція нафти дорівнювала 88,5 %. При очищенні забрудненої нафтою прісної і морської води також була встановлена висока деструктивна активність препарату, яка досягла 81,9-83,1 % порівняно з 1,3-1,8 % у контрольних варіантах досліду без використання препарату.

Таким чином, проведені дослідження показали, що створений на основі природних вуглеводеньокислюючих штамів бактерій препарат «Родойл» ефективно очищує ґрунт і воду від нафти та її компонентів. Особливістю вказаного препарату є те, що до його складу входять бактерії, у яких поверхня клітинної стінки має гідрофобні (*A. calcoaceticus*) та гідрофільні (*G. rubropertinctus* і *R. erythropolis*) властивості [5]. Клітини *A. calcoaceticus* можуть адсорбуватися безпосередньо на краплинах вуглеводнів і, збільшуючи таким чином площу контакту із субстратом, сприяти більш ефективній його деструкції. Гідрофобна клітинна стінка штамів *G. rubropertinctus* і *R. erythropolis* має гідрофільну поверхню та містить значну кількість високоліпофільних сполук (міколових кислот та їх похідних), які значно полегшують проникнення вуглеводнів у клітину і прискорюють їх утилізацію. Препарат [6] призначений для використання в біотехнологіях очищення ґрунту й води від забруднень вуглеводнями нафти.

1. Коронелли Т. В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводородов в окружающей среде (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология.- 1996.- Т. 32.- № 6.- С. 579-585.
2. Ногіна Т. М., Шдгорський В. С., Думанська Т. У., Дульгеров О. М., Шкаруба В. В. Вибір активних штамів-деструкторів вуглеводнів, ізольованих із забруднених нафтою ґрунтів // Вісник Ужгород, ун-ту.- 2001- № 10- С. 145-147.

3. Смирнова З. С., Таптыкова С. Д. Использование пропана и его производных некоторыми видами проакинотомов // Микробиология.- 1967.- Т. 34.- № 3.- С. 381-385.
4. ОСТ 38.01378-85. Охрана природы. Гидросфера, определение нефтепродуктов в сточных водах методом инфракрасной спектрофотометрии.- М.: Изд-во стандартов, 1985.- 8 с.
5. Ногіна Т. М., Думанська Т. У., Шдгорський В. С. Гідрофобно-гідрофільні та емульгуючі властивості клітин *Rho-*

rhodococcus erythropolis, *Gordonia rubropertinctus* та *Acinetobacter calcoaceticus* при рості на різних субстратах // Наукові записки НаУКМА.- 2003- Т. 21- С. 15-19.
6. Деклараційний патент на винахід 34894 А Україна, С 02F 3/34.

Препарат для біологічного очищення ґрунту і води від забруднень нафтою та нафтопродуктами «Родойл» / Дульгерів О. М., Ногіна Т. М., Підгорський В.С., Думанська Т. У., Гавриленко М. М.- Опубл. 15.03.2001.- Бюл. № 2.

T. Dumanskaya, T. Nagina, V. Podgorsky

**PREPARATION FOR PURIFICATION
OF ENVIRONMENT FROM OIL POLLUTION
ON THE BASIS OF *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS*,
GORDONIA RUBROPERTINCTUS
AND *ACINETOBACTER CALCOACETICUS***

*On the basis of natural active hydrocarbons-degrading bacterial strains preparation «Rodoil» which including *Acinetobacter calcoaceticus* IMVB-7013, *Gordonia rubropertinctus*IMVAc-5005 and *Rhodococcus erythropolis* IMB B-7012, optimum picked up mineral components (nitroammofoska) and a sorbent was created. For soils reclaiming in a preparation as a sorbent use vermiculit, and for clearing oil pollution of reservoirs -perlite «Pearls». The preparation is capable to clear effectively soils and the water oil pollution.*