

Ахмедярова Г., Насырова Дж., Аннадурдыева Г.  
(г. Ашхабад, Международный университет нефти и газа)

## **ИНТЕНСИФИКАЦИЯ МЕТОДОВ МИКРОБНОЙ ДЕСТРУКЦИИ НЕФТИ**

По величине разведанных запасов и перспективных ресурсов углеводородов Туркменистан занимает одно из ведущих мест в мире. Запасы и ресурсы углеводородов сосредоточены в недрах суши Туркменистана и в подземных кладовых Туркменского сектора Каспийского моря [1]. Ежегодный рост их добычи, переработки и транспортировки обуславливают необходимость разработки мероприятий по оценке негативного влияния нефтяного загрязнения на окружающую среду, поиск путей решения проблемы по снижению техногенного влияния на природу на всех этапах работ.

Среди мер, предпринимаемых с целью очистки окружающей среды от загрязнений, важное место занимает интенсификация методов микробной деструкции нефти. При этом предполагается активизация не только аборигенной микрофлоры на месте загрязненных объектов, но и внесение биопрепаратов, содержащих штаммы активных нефтедеструкторов.

Для целью поиска эффективного метода решения данной проблемы были проведены лабораторные исследования по изучению количественного и качественного состава аборигенных углеводородокисляющих микроорганизмов, а также по определению их биоактивности. Для этого были взяты пробы почв и образцы сточных вод с территорий нефтедобычи и нефтепереработки Западного Туркменистана.

Известно, что в полученных образцах присутствуют микроорганизмы различных систематических групп [2]. Для выделения из образцов необходимых для работы углеводородокисляющих микроорганизмов и получения на их основе накопительной культуры в колбы с подготовленной селективной питательной средой, содержащей 1 % сырой нефти, внесли небольшое количество почвенной суспензии, и полученные образцы инкубировали в течении пяти дней. Наличие в среде смеси углеводородов в качестве единственного источника углерода, и аэробные условия способствовали росту и развитию нефтеокисляющих микроорганизмов [2]. При получении накопительной культуры микроорганизмов было обнаружено, что в колбе с почвенной суспензией происходит разложение нефти, а в контрольном образце (без их добавления) нефть обнаруживается в неизменном состоянии.

Пробу, где наблюдалось активное разрушение нефтяной пленки в течение всего периода культивирования, использовали для количест-

венного подсчета клеток и в дальнейшем для получения чистой культуры углеводородокисляющих микроорганизмов. Метод предельного разведения пробы с последующим высевом на мясопептонный агар и подсчета колоний с помощью цифрового счетчика позволил установить численность гетеротрофных бактерий. В результате максимальное количество микроорганизмов наблюдается на третий день после начала культивирования, что составляет по оптической плотности 0,45 соответствующей численности бактерий  $3,45 \cdot 10^8$  кл./мл.

Таким образом, показано, что разрушение углеводов нефти протекает за счет биологического окисления и активности участвующих в окислении микроорганизмов, а максимальная численность бактерий совпадает с периодом интенсивного разложения нефтяной пленки в исследуемых образцах. Кроме этого, культивируемый в термостате материал показал наличие двух доминирующих типов колоний микроорганизмов - представителей родов *Pseudomonas* и *Bacillus*. Их морфологические, культуральные и физиологические свойства были всесторонне изучены, а сам материал был использован для проведения лабораторных экспериментов по изучению биоокисления нефти и некоторых видов нефтепродуктов, а также исследованию влияния факторов окружающей среды с целью управления эффективностью процесса.

Биодеструкции подвергали товарную нефть месторождения Экерем и нефтепродукты Туркменбашинского нефтеперерабатывающего завода, такие как бензин, дизельное топливо и промышленное масло. Химический состав нефти данного месторождения составляют на 71 – 84 % легкие углеводороды, на 4,7 - 13,9 % ароматические и около 1,8 - 2,1 % углеводороды тяжелых фракций [3].

В колбы с приготовленными растворами на основе нефти и нефтепродуктов были введены чистые культуры бактерий, которые культивировали в термостате в течение двух недель при температуре 30 °С. В результате данных исследований с помощью метода флуориметрии было установлено, что внесение углеводородокисляющих микроорганизмов по сравнению с контрольными образцами существенно повышает (от 50 % до 80 %) процесс биоокисления нефти и нефтепродуктов. Интенсивная деструкция углеводов наблюдается в среде с бензином, поскольку он состоит в основном из легких фракций.

Для повышения эффективности разложения углеводов нефти и оптимизации технологических параметров процесса были проведены научные исследования по установлению факторов, влияющих на их активность микроорганизмов [4]. Среди них температура, содержание свободного кислорода в рабочей среде и влияние биогенных элементов.

Нашими исследованиями показано, что оптимальный температурный интервал для роста и развития используемых углеводородоокисляющих микроорганизмов является 23 °С – 28 °С. Установлено, что при указанных температурных показателях углеводороды разрушаются с эффективностью 70 % – 90 %.

Как известно, принудительная аэрация ускоряет рост численности углеводородоокисляющих микроорганизмов, и это отражается на эффективности деструкции нефтепродуктов [4]. Проведенные опыты показали, что происходит увеличение степени окисления товарной нефти до 75 %, бензина до 79 %, дизельного масла до 69 % и промышленного масла до 60 %.

Для увеличения скорости разложения углеводородов нужно максимально устранить факторы, ограничивающие рост микроорганизмов. К таким факторам относится недостаток биогенных элементов, в первую очередь азота и фосфора. Применение азотно-фосфорных удобрений является наиболее распространённым и доступным способом стимуляции нефтеразрушающей микрофлоры [4].

В результате проделанных экспериментов по оптимизации условий выращивания углеводородоокисляющих микроорганизмов и определению соотношения биогенных элементов, необходимых для роста микроорганизмов, можно сделать вывод, что соотношение биогенов азота и фосфора, равное 5 : 1, стимулирует рост биомассы популяции микроорганизмов. Под их влиянием достигается максимальный рост численности углеводородоокисляющих микроорганизмов до 207 млн кл./мл. При изменении соотношения в сторону увеличения биогенов происходит угнетение роста популяции микроорганизмов за счёт образования токсических соединений и накопления нитратов, что приводит к снижению численности нефтеокисляющих бактерий до 13,8 млн кл./мл. Принимая во внимание этот факт, можно целенаправленно оптимизировать процесс очистки, полностью удовлетворяя потребности углеводородоокисляющих микроорганизмов в содержании в среде компонентов азотно-фосфорного питания и не допускать накопления избытков удобрений в окружающей среде.

Таким образом, было установлено, что при создании определенных условий углеводородоокисляющие микроорганизмы с высокой эффективностью способствуют разложению углеводородов нефти и нефтепродуктов. Этот метод является экологически безопасным и не требует значительных затрат энергии и средств, что существенно расширяет возможности его применения. Так, биотехнологический метод рекомендуется применять для очистки от нефтяного загрязне-

ния почв, открытых водоемов, промышленных сточных вод, а также резервуаров нефтяных отходов и нефтешламов.

Как видно из вышесказанного, использование данного метода для ликвидации нефтяного загрязнения имеет несомненное преимущество вследствие своей универсальности и включает в себя комплексный подход в решение проблемы ликвидации загрязнений, переработки отходов и рекультивации земель.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. «Türkmenistanyň nebitgaz senagatyny ösdürmegiň 2030-njy ýyla çenli döwür üçin Maksatnamasy». Aşgabat, 2006.
2. Градова Н.Б., Бабусенко Е.С. Лабораторный практикум по общей микробиологии. РХТУ им. Д.И.Менделеева. М., 1998.
3. Нефти СССР (справочник в 4-х томах). Том IV. Нефть Средней Азии, Казахстана, Сибири и о. Сахалин. М., Химия, 1974.
4. Методы почвенной микробиологии и биохимии. Под ред. Д.И.Звягинцева. М., из-во МГУ, 1991.