



логий по устранению экологических токсикологических веществ (Заключительный отчет). Дагестанский технический университет. – Махачкала, 2004. – 70 с. 5. Вагабов М.-З.В., Исмаилов Э.Ш., Рабаданов Г.А. и др. Содержание органических примесей в водной среде западного побережья Каспия. // Химическое загрязнение среды обитания и проблемы экологической реабилитации нарушенных экосистем». – Пенза, 2004. – С. 42-45. 6. Исмаилов Э.Ш., Рабаданов Г.А., Буганов Г.А., Абдуллаев Р.Р. Распределение тяжелых металлов в воде и донных отложениях Каспийского моря. // Химическое загрязнение среды обитания и проблемы экологической реабилитации нарушенных экосистем». – Пенза, 2004. – С. 76-78. 7. Исмаилов Э.Ш., Вагабов М.-З.В., Рабаданов Г.А. и др. Биохимический мониторинг токсичности загрязнения морских вод. // Окружающая среда и здоровье. – Пенза, 2004. – С. 67-70. 8. Золотов Ю.А. Тест-методы анализа объектов окружающей среды. Тез. докл. Всероссийской конференции «Экоаналитика 94». – Краснодар, 1994. – С. 3-4. 9. Каталог сухих микробиологических питательных сред. 4-е издание. – Махачкала: ИПО «Юпитер», 1995. – 7 с. 10. Исмаилов Э.Ш., Вагабов М.-З.В., Аливердиева А.А. Определение биологической активности пищевых растительных компонентов. // Аналитические методы измерений и приборы в пищевой промышленности. – М., 2005. – С. 246-249.

УДК 579.66

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОПТИМИЗАЦИИ МИКРОФЛОРЫ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ СУБСТРАТОВ

© 2010 Смольникова В.В., Емельянов С.А.

Северо-Кавказский государственный технический университет

Описаны физико-химические процессы, протекающие в почвах загрязненных углеводородами нефти. Рассмотрен биологический метод очистки и восстановления экологической функций нефтезагрязненных почв, основанный на интенсификации процессов биodeградации углеводородов нефти, за счет создания оптимальных условий жизнедеятельности аборигенной углеводородокисляющей микрофлоры.

The physical and chemical processes proceeding in soils polluted hydrocarbons of oil are described. The biological method of clearing and restoration ecological functions of the petropolluted soils, based on an intensification of processes of biodegradation of hydrocarbons of oil, at the expense of creation of optimum conditions of ability to live native carbon oxidizing microflorae is considered.

Ключевые слова: нефтяное загрязнение, очистка субстратов, компост, молочная сыворотка, дождевые черви.

Keywords: oil pollution, clearing of substrata, compost, dairy whey, earthworms.

В настоящее время нефть является наиболее широко используемым топливно-энергетическим ресурсом. По оценкам экспертов в мире ежегодно в окружающую среду попадает более 45 млн. т. нефти и нефтепродуктов или 2% от ежегодной мировой добычи. Загрязнение нефтью и нефтепродуктами приводит к глубокому изменению физических, химических и биологических свойств почв. Частицы почвы слипаются, образуя крупные, трудноразрушаемые агломераты. Нефть обладает ярко выраженными гидрофобными свойствами, поэтому, обволакивая биологически активные вещества почв, делает их недоступными для водорастворимых ферментов и корневой системы растений. Нефть адсорбируется частицами почвы, заполняя поры и вытесняя почвенный воздух. На границе адсорбционного слоя формируется пространственный каркас коагуляционной структуры, дальнейшее уплотнение которого приводит к образованию аномального граничного слоя нефти толщиной до 5-20 мкм. Вязкость нефти в этом слое выше вязкости нефти в объеме примерно в 10 раз [1].

Загрязнение почвы углеводородами нефти приводит к потере продуктивности земель и деградации ландшафтов. Исследования разливов нефти показали, что полная регенерация биоценозов не достигается даже через 25 лет после аварии. Продуктивность почвы во многом обуслови-



вается ее структурой, которая в свою очередь определяется состоянием почвенных коллоидов. Агрономически ценной является зернистая структура верхних горизонтов почвы. Подобная структура почвы обеспечивает хорошую аэрацию, высокую водопроницаемость и влагоудерживающие свойства, подавляет вынос питательных веществ [2, 3]. В результате нефтяного загрязнения в почве формируется раздельно-частичная или бесструктурно-массивная структура.

Процесс деградации нефти в почве, в том числе микробиологическое окисление углеводов, в настоящее время подробно изучен во многих научных трудах [4-6]. Биodeградация нефти включает разрушение алифатических углеводов, трансформацию и разрушение асфальто-смолистых соединений, циклических, полициклических и ненасыщенных углеводов за счет физико-химических и микробиологических процессов при участии углеводородокисляющей микрофлоры. К биodeградации нефтепродуктов способны многие широко распространенные в почвенных экосистемах представители родов *Bacillus*, *Bacterium*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium* [7].

Непосредственно после попадания нефти в почвенную экосистему наблюдается испарение низкомолекулярных летучих фракций с поверхности почвы. Алкановые углеводороды (парафины) с количеством атомов углерода от 5 до 11 оказывают токсическое и наркотическое действие на педобионтов, способны мигрировать через клеточные мембраны. Большинство микроорганизмов не способны ассимилировать алканы с количеством атомов углерода в цепочках менее 9, однако, могут их окислять. Легкие фракции удаляются из почвы в течение первых 2-3 суток после загрязнения, и токсичность нефти значительно снижается. Одновременно происходит миграция углеводов нефти по почвенным горизонтам, протекают процессы сорбции, вымывания, окисления, в том числе под действием солнечного ультрафиолетового излучения, микробиологическое разрушение, растворение в почвенной влаге продуктов микробиологической трансформации углеводов. Твердые парафины с числом атомов углерода от 12 до 27 малотоксичны, но, застывая, закупоривают почвенные поры, тем самым, нарушая аэрацию и влагообмен в почве. Твердые парафины хорошо ассимилируются микроорганизмами в процессе микробиологического окисления за счет ферментов-оксидаз (оксигеназ) при внедрении атома кислорода в концевую метильную группу углеводорода [8].

Циклические углеводороды в нефти представлены нафтеновыми и ароматическими. Эти соединения активно утилизируются углеводородокисляющей микрофлорой с образованием оксо- и оксикислот. Ароматические углеводороды, находящиеся на поверхности почвы, разрушаются за счет фотолитиза, в почве протекает окисление и гидролиз под действием микробиологических ферментов в смешанных микробных популяциях. Наиболее устойчивы к биodeградации соединения с большим количеством колец в молекуле углеводорода [9].

Самое значительное изменение физических свойств почв происходит при попадании в среду асфальто-смолистых соединений. Они сорбируются верхним гумусовым горизонтом почвы, прочно скрепляя ее частицы, при этом значительно уменьшается поровое пространство, нарушается аэрация. Асфальто-смолистые соединения обладают выраженными гидрофобными свойствами, поэтому в результате обволакивания этими соединениями частичек почвы субстрат приобретает выраженные гидрофобные свойства. Эти высокомолекулярные соединения малодоступны ферментной системе микроорганизмов, поэтому их окисление и минерализация протекают крайне медленно [10].

Таким образом, самое значительное снижение концентрации нефти в почве достигается за счет процессов испарения легких фракций нефти, минерализации и гумификации. Под действием микробных ферментов происходит разрушение углеводородных цепочек, разрыв ароматических и нафтеновых колец, углеводороды разлагаются до простых соединений. Со временем в почве накапливаются устойчивые высокомолекулярные соединения, недоступные для ферментной системы микроорганизмов.

Процесс очистки почвы от углеводов должен обеспечить их интенсивное разложение до простых составляющих, не оказывающих токсического действия на почвенную биоту. Возможность выполнения почвой экологических функций предполагает восстановление ее зерни-



стой структуры и физико-химических свойств. Интенсивность деградации углеводов нефти в почвенных экосистемах зависит от начальной концентрации нефти в почве, ее качественного состава, почвенно-климатических условий. Большое значение имеет кислотность, условия аэрации, присутствие углеводородокисляющей микрофлоры, ее численность. Таким образом, для интенсификации процессов разложения нефти и нефтепродуктов в почве необходимо создать благоприятные условия для накопления микрофлоры, способной разлагать углеводороды нефти.

Нами разработана технология очистки нефтезагрязненных субстратов и восстановления их экологических функций, основанная на создании благоприятных условий существования аборигенной углеводородокисляющей микрофлоры путем механических воздействий на нефтезагрязненные субстраты, внесения органического материала и популяции дождевых червей, адаптированных к местным условиям. Технология состоит из нескольких операций: вспашки загрязненного участка, внесения ферментированного органического материала, обогащенного молочнокислой и углеводородокисляющей микрофлорой, разрыхлителя и популяции дождевых червей. Воздействие на нефтезагрязненную почву осуществляется посредством физических, химических и биологических взаимодействий, позволяющих интенсифицировать процесс биodeградации углеводов нефти и восстановить естественную зернистую структуру высокоплодородных субстратов.

Физическое воздействие происходит на трех уровнях. На макроуровне за счет вспашки нефтезагрязненного субстрата осуществляется разрушение уплотненного слоя (корки) нефтепродукта на поверхности почвы и внутри наиболее крупных почвенных пор. Одновременно происходит механическое перемешивание агломератов нефтезагрязненной почвы и ферментированного органического материала, выравнивание средней концентрации углеводорода по почвенному профилю. Вспашка позволяет многократно увеличить активную поверхность контакта нефтезагрязненной почвы с кислородом, микрофлорой, микробными ферментами и биологически активными веществами компоста.

При внесении в субстрат дождевых червей происходит физическое воздействие на мезоуровне. Заглатывание беспозвоночными частичек нефтезагрязненной почвы с ферментированным органическим материалом способствует более тонкой деструкции почвенных агломератов и перемешиванию с компостом, обогащению субстрата микрофлорой в процессе питания и перемещения беспозвоночных. Измельчение нефтезагрязненных агломератов увеличивает эффективную поверхность воздействия микробиотической системы. Копролиты, являющиеся продуктом жизнедеятельности дождевых червей, выбрасываются на поверхность почвы и способствуют образованию зернистой структуры на ее поверхности.

Передвижение дождевых червей внутри почвенного субстрата, сопровождающееся построением постоянных и временных ходов, способствует структурированию почвы во всем объеме. Постоянные ходы дождевых червей укрепляются слизистыми выделениями, содержащими известь, что способствует формированию зернистой структуры почв, а известковые выделения увеличивают ее буферную емкость. Кроме того, дождевые черви выделяют в окружающую среду биологически активные вещества.

На микроуровне происходит перераспределение питательных веществ между загрязненной почвой и компостом, за счет потоков биогенных элементов, создаваемых почвенной биотой.

Химическое воздействие на нефтезагрязненный субстрат осуществляется за счет процессов жизнедеятельности почвенной биоты. Деятельность ферментов пищеварительной системы дождевых червей, молочнокислой и углеводородокисляющей микрофлоры приводит к биodeградации основных компонентов нефти. Углеводороды нефти включаются в процессы метаболизма, становясь источником углерода для почвенной микрофлоры.

Рассматриваемая технология предусматривает внесение в нефтезагрязненную почву компоста, полученного при ферментации растительных органических отходов с использованием молочной сыворотки. В начале процесса компостирования в смесь органических отходов вносят молочную сыворотку и нефтезагрязненную почву в качестве источников молочнокислой и углеводородокисляющей микрофлоры. Этот технологический прием позволяет ускорить процессы разложения органики и увеличить общую численность целевой микрофлоры в компосте. Для эф-



фективной работы углеводородокисляющей микрофлоры необходимо обеспечение благоприятных условий. Требуется наличие факторов роста, витаминов, микроэлементов, биологически активных веществ, активная аэрация субстрата. Молочная сыворотка является хорошей питательной средой для роста микрофлоры, богата белковыми и азотистыми соединениями, углеводами, липидами, минеральными солями, витаминами, органическими кислотами, ферментами, иммунными телами и микроэлементами. Молочная сыворотка содержит компоненты, обладающие выраженными поверхностно-активными свойствами, облегчающими разрушение гидрофобных частиц в почве. В процессе компостирования создаются оптимальные условия для развития микроорганизмов, поэтому готовый ферментированный материал содержит повышенное количество молочнокислой и углеводородокисляющей микрофлоры. Компостирование сопровождается разрушением органических веществ, в том числе гидролизом целлюлозы. Присутствие в субстрате гидролизованной целлюлозы создает пространственный каркас для формирования зернистой структуры почвы. Присутствие в компосте неразложившихся органических остатков, сохранивших тканевое строение, является пролонгированным источником биогенных и питательных элементов для почвенной экосистемы. Ферментированный органический материал является источником не загрязненной углеводородами нефти питательной среды для дождевых червей, дополнительным источником витаминов, микроэлементов и биологически активных веществ.

Нефтезагрязненная почва имеет раздельно-частичную структуру, содержащую диспергированный коллоид. Разрушение гидрофобных агрегатов и структурирование гумусовой компоненты почв при воздействии биотического комплекса приводит к восстановлению зернистой структуры почвы, содержащей флокулированный коллоид, стабилизируемый минеральными частицами и ионами. Наноструктура почв, являющаяся средой обитания микробиоты, приобретает гелеподобную структуру, оптимально подходящую для развития специфической почвенной микрофлоры, которая в свою очередь является одним из основных факторов почвенного плодородия. Комплексное воздействие компоста и популяции дождевых червей на нефтезагрязненный субстрат способствует восстановлению нарушенной структуры почвы и обогащению среды целевыми микроорганизмами.

Для разложения прочных гидрофобных агрегатов, образовавшихся в результате изменения структуры почвы в условиях нефтяного загрязнения, требуется обеспечить сольватацию поверхности адсорбционного слоя нефти, снижение межфазного натяжения на границе нефть – почва, и смачивание адсорбированных поверхностью почвы нефтяных компонентов. Сольватация компонентов нефти позволит микрофлоре использовать углеводороды как источник углерода, включив его в собственный метаболизм. В состав молочной сыворотки входят поверхностно-активные вещества, способные облегчить сольватацию и эмульгирование углеводородов, делая их более доступными для ферментной системы микроорганизмов.

Симбиотические отношения молочнокислой и углеводородокисляющей микрофлоры с дождевыми червями создают оптимальные условия для биодеградации углеводородов. В результате биологических взаимодействий организмов, входящих в искусственно сформированный сапрофитный комплекс, улучшаются условия обитания всех биологических объектов, входящих в его состав. Жизнедеятельность дождевых червей обеспечивает выравнивание концентрации питательных веществ, микроэлементов и биологически активных веществ во всем объеме обрабатываемой почвы. Вследствие их деятельности скопления микроорганизмов равномерно распределены по почвенному профилю, микробные колонии имеют постоянный приток питательных веществ, что положительно сказывается на общей численности почвенной микрофлоры. Постоянные и временные ходы дождевых червей заметно улучшают аэрацию субстрата, обеспечивая постоянный приток воздуха, обогащенного кислородом, в более глубокие почвенные горизонты. Слизистые выделения дождевых червей содержат известь, которая нейтрализует избыточную кислотность, поддерживая рН на оптимальном уровне. В результате деятельности молочнокислой микрофлоры подавляется развитие плесневых грибов и патогенных микроорганизмов, ухудшающих санитарное состояние почвы. Углеводородокисляющая микрофлора, находясь в опти-



мальных условиях для развития, быстро увеличивается в численности и эффективно разлагает углеводороды нефти.

При очистке нефтезагрязненных почвенных экосистем следует учитывать необходимость восстановления почвенного плодородия в конкретных экологических условиях. Предлагаемая комплексная технология базируется на стимулировании собственных биотических резервов экосистемы и обеспечивает возможно быстрое восстановление нарушенных природных комплексов. Наиболее устойчивыми к изменению физико-химических свойств среды являются космополитные и доминантные виды. Применение в биотехнологиях местных экологических форм заметно снижает период адаптации сформированного искусственного биотического комплекса к реальным условиям окружающей среды. Использование дождевых червей и углеводородокисляющей микрофлоры аборигенных видов с одной стороны дает возможность избежать конкуренции между интродуцированными и аборигенными микроорганизмами, с другой стороны позволяет сформировать устойчивый сапрофитный комплекс педобионтов, связанных симбиотическими отношениями. В таком случае процесс очистки и восстановления экологических функций нефтезагрязненных почв может рассматриваться как интенсификация процесса самоочищения и самовосстановления почвенных экосистем.

Библиографический список

1. Орлов Д. Г. Химическое загрязнение почв и их охрана. / Д.Г. Орлов, М.С. Малинина, Г.В. Мотузова. – М.: Агропромиздат, 1991. – 303 с.
2. Вергунова Е.А. Полевые исследования влияния загрязнения территории нефтью на флору высших растений. // Нефтепромысловое строительство. – 1985, №8. – С. 17-18.
3. Деградация и охрана почв. / Под общей ред. акад. РАН Г.В. Добровольского. – М.: Изд-во МГУ, 2002. – 654 с.
4. Пиковский Ю.И. Природные и техногенные потоки углеводородов в окружающей среде. – М.: МГУ, 1999. – 208 с.
5. Петров А.А. Углеводороды нефти. – М.: Наука, 1984. – 264 с.
6. Андреев П.Ф., Богомолов А.И., Добрянский А.Ф., Карцев А.А. Превращения нефти в природе. – Л.: Гостоптехиздат, 1958. – 416 с.
7. Коронелли Т.В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводородов в окружающей среде. Обзоры. // Прикладная биохимия и микробиология. – 1996. Т. 32. №6. – С. 579-585.
8. Гузев В.С., Левин С.В. Перспективы эколого-микробиологической экспертизы состояния почв при антропогенных воздействиях. // Почвоведение. – 1991. № 9. – С. 50-62.
9. Herbes, S. E., Schwall, L. R., 1978. Microbial transformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in pristine and petroleum-contaminated sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 35. – P. 306-316.
10. Wolter, M., Zadrzil, F., Martens, R., Bahadir, M., 1997. Degradation of eight highly condensed polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pleurotus* sp. Florida in solid wheat straw substrate. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48. – P. 398-404.