

УДК 556.315:556.388:556.46

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АБОРИГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ ДЛЯ БОРЬБЫ С НЕФТЯНЫМ ЗАГРЯЗНЕНИЕМ ПОДЗЕМНЫХ ВОД

В. Т. Хмурчик^a, Н. Г. Максимович^b

^a Институт экологии и генетики микроорганизмов РАН, Пермь, 614081, ул. Голева, 13

^b Естественнонаучный институт, Пермь, 614990, ул. Генкеля, 4

Рассматриваются методы биологической очистки природных сред от загрязнения нефтью и нефтепродуктами. Опробован способ борьбы с нефтяным загрязнением вод на территории Полазенского нефтяного месторождения Пермского края с помощью бактериального препарата, созданного на основе аборигенной нефтеокисляющей микрофлоры.

Предприятия нефтедобывающего и перерабатывающего комплекса оказывают существенное воздействие на окружающую среду. В районах их расположения происходит изменение химического и микробиологического состава подземных и поверхностных вод и грунтов в результате их загрязнения нефтепродуктами, поверхностно-активными веществами, различными химическими реагентами. Например, на Полазенском месторождении нефти в течение 50-летнего периода эксплуатации на поверхности грунтовых вод сформировались линзы нефти. Данный участок имеет ряд особенностей, обусловленных развитием карста, которые способствуют загрязнению первого от поверхности водоносного горизонта нефтепродуктами. Здесь все атмосферные осадки, а также проливы, разливы (в том числе нефти) практически беспрепятственно поглощаются трещиноватыми породами, воронками, котловинами и другими карстовыми формами (Горбунова, Максимович, 1991; Бузмаков, Костарев, 2003; Максимович, Казакевич, 2004).

Подземные воды являются благоприятной средой для существования микроорганизмов, которые способны трансформировать не только природные органические компоненты, но и большое количество ксенобиотиков (Ghiorse, Wilson, 1988; Kolbel-Boelke, Anders, Nehr Korn, 1988; Kaiser, Bollag, 1990). Считается, что загрязненные подземные воды содержат адаптировавшиеся микробные популяции, способные к трансформации загрязняющих веществ в окислительно-восстановительных условиях. Существенным фактором является наличие акцепторов электронов (агентов окисления) в достаточном количестве (Criddle, McCarty, Elliott et al., 1986; Edwards, Grbic-Galic, 1992; Elmen, Pan, Leung et al., 1997; Lovley, 1997; Caldwell, Tanner, Sufflita, 1999; Robertson, Bowman, Franzmann et al., 2001; Kleikemper, Schroth, Sigler et al., 2002). Та-

ким образом, наличие активной микрофлоры в подземных водах обеспечивает процессы их самоочищения. Однако естественное самоочищение природных объектов, например от нефтяного загрязнения, является длительным процессом, продолжающимся от одного до нескольких десятилетий.

Начиная с 70-х гг. XX в. ведется активный поиск способов интенсификации биологической деградациии углеводородов в природной среде. Имеются два принципиальных подхода к решению этой проблемы: стимуляция естественной нефтеокисляющей микрофлоры путем создания оптимальных условий для ее развития и введение в загрязненную экосистему активных углеводородокисляющих микроорганизмов наряду с добавками солей азота и фосфора. В некоторых ситуациях введение бактериальных нефтеокисляющих препаратов не только оправданно, но и совершенно необходимо. Например, в северных районах, где теплый период года непродолжителен, процессы биодеградациии не успевают развернуться в полной мере. В таком случае повышение численности углеводородокисляющих микроорганизмов путем интродукции активных форм, безусловно, является полезным (Коронелли, 1996). Особенно актуально это для нашей страны, расположенной в основном в зоне холодного и умеренного климата. Следует отметить, что интродукция в нефтезагрязненную природную среду автохтонных (т. е. выделенных из этой среды) нефтеокисляющих микроорганизмов не оказывает негативного влияния на естественную экологическую обстановку (Морозов, Николаев, 1978; Квасников, Ключникова, 1981; Коронелли, 1996).

Биохимическая деструкция нефтепродуктов применяется главным образом для ликвидации поверхностных разливов нефти. Отечественные и за-

рубежные технологии борьбы с нефтяными загрязнениями подземных вод основаны, как правило, на использовании технических средств (сбор, откачка нефти и т.д.) или различных препаратов, в том числе и микробиологических («Путидойл», «Олеоворин», «Нафтокс», «Uni-rem», «Родер», «Центрин», «Псевдомин», «Дестройл», «Микромицет», «Лидер», «Деворойл» и др.). Борьба с нефтяным загрязнением подземных вод требует особых приемов и технологий, учитывающих особенности гидродинамического режима подземных вод, литологический состав вмещающих пород и характер перераспределения нефти в системе «вода – порода».

риальной обработке (2 об.% трехсуточной культуры консорциума с содержанием клеток $1.0 \cdot 10^8$ КОЕ/мл), и сравнивали с контрольными образцами, не подвергнутыми бактериальной обработке. Натурные испытания проводили на наблюдательных скважинах Полазнинского карстового района, где над грунтовыми водами сформировалась нефтяная линза (рисунок).

Анализ ИК-спектров показал снижение интенсивности пиков ароматических колец (1600 и $875-750$ см^{-1}), CH_2 - и CH_3 -групп (2900 , 2800 , 1470 , 1380 , 720 см^{-1}) и различных С-О связей ($1740-1700$, 1260 , 1090 см^{-1}) в контрольных и опытных образцах, которое было отчетливым в опытных образ-

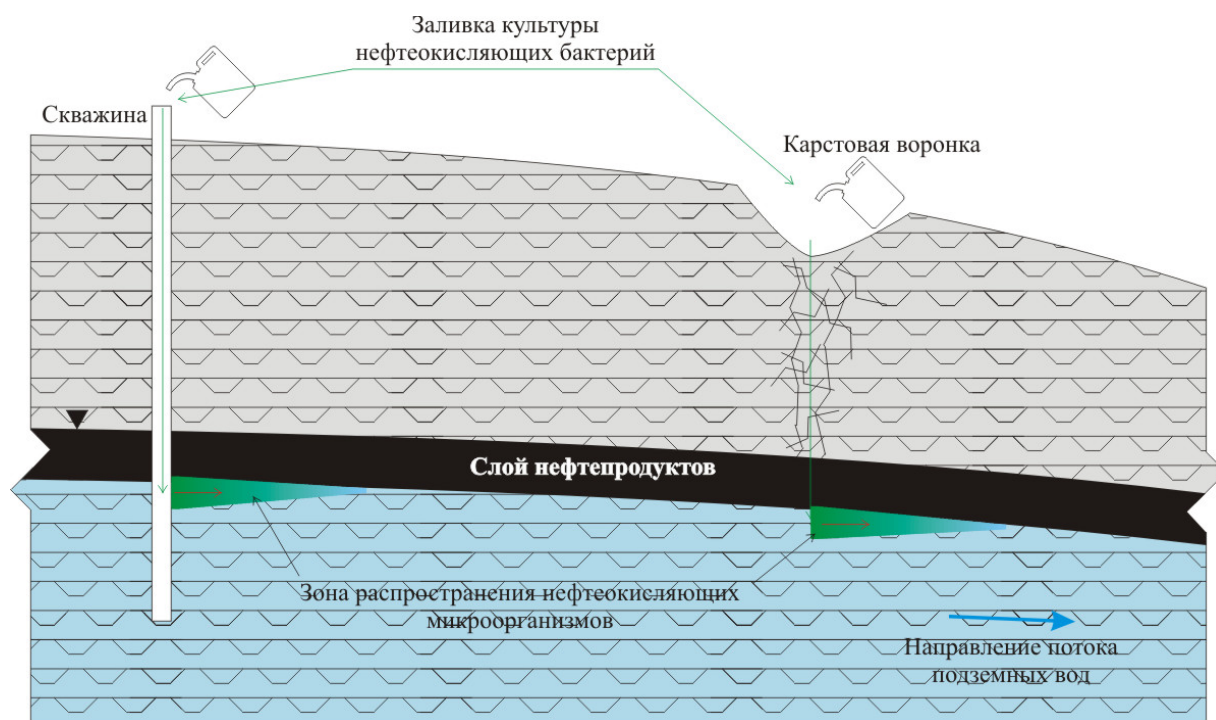


Схема биохимической очистки подземных вод

Для борьбы с загрязнением подземных вод в районе Полазны из почв и подземных вод нефтяного месторождения выделено активное нефтеокисляющее сообщество микроорганизмов, состоящее из двух штаммов бактерий, которые по культурально-морфологическим и физиолого-биохимическим свойствам были отнесены к *Pseudomonas aeruginosa* и *Pseudomonas fluorescens*. Оба штамма бактерий – мезофиллы с границами хорошего роста и высокой активностью при температуре $15-35^\circ\text{C}$ (оптимум $26 \pm 2^\circ\text{C}$), обладают способностью к денитрификации нитрата. Нефтедеструктирующую активность консорциума микроорганизмов определяли по убыли индивидуальных компонентов нефти, регистрируемой общепринятыми методами газожидкостной хроматографии и ИК-спектрометрии в хлороформенных экстрактах из опытных образцов грунтовых вод Полазнинского нефтяного месторождения, искусственно загрязненных 10 мас.% нефти и подвергнутой бакте-

риальной обработке. В опытных образцах отмечено уменьшение значений спектральных коэффициентов $K(I_{720}/I_{1470})$ и $C_3(D_{720}/D_{1380})$ и увеличение значений спектральных коэффициентов $C_1(D_{1610}/D_{720})$, $C_2(D_{750}/D_{720})$ и $K_1(I_{750}/I_{720})$, свидетельствующие о снижении доли н-парафиновых компонентов. После воздействия бактериального сообщества содержание н-алканов ($\Sigma n\text{-C}_{12-34}$) в нефти снизилось в 4.2 раза по сравнению с контролем за счет деструкции, главным образом, низко- и среднемолекулярных углеводородов, что не зависело от того, имели углеводороды четное или нечетное число атомов углерода. При этом наблюдалось значительное изменение в соотношении между н-алканами и нафтеновыми углеводородами, а также н-алканами и изопреновыми углеводородами. По данным ИКС и ГЖХ, содержание н-алкильных структур под действием микроорганизмов снизилось примерно в 4 раза. В то же время в контрольных образцах снижение содержания

данных компонентов за счет действия физико-химических факторов не превышало 20%. В результате деятельности микроорганизмов в составе отдельных классов углеводородов нефти также произошли значительные изменения.

Таким образом, исследования показали, что выделенное микробное сообщество способно использовать углеводороды нефти для поддержания своей жизнедеятельности и, следовательно, может быть использовано для интродукции в нефтезагрязненные подземные воды Полазнинского нефтяного месторождения с целью их биологической очистки. Данный консорциум может быть применен для очистки не только подземных, но и поверхностных и сточных вод. Его эффективность будет зависеть от конкретных (геохимических, литологических, гидродинамических) природных условий. Метод может быть использован как самостоятельным, так и как дополнительный к традиционным и повышать при этом эффективность очистки. Особый эффект данной технологии можно ожидать при очистке пород от сорбированных нефтепродуктов в зоне сезонного колебания уровня подземных вод.

Следует отметить, что в подземных водах, загрязненных большими дозами органических веществ, создается восстановительная обстановка, вследствие чего деятельность аэробных окисляющих микроорганизмов становится невозможной. В таких случаях процессы естественного самоочищения идут за счет деятельности факультативно анаэробных и анаэробных микроорганизмов (Criddle, McCarty, Elliott et al., 1986, Lovley, 1997; Robertson, Bowman, Franzmann et al., 2001). Так, в подземных водах, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, часто обнаруживают способные к их анаэробному окислению сульфатвосстанавливающие бактерии (Coates, Woodward, Allen et al., 1997; Kropp, Davidova, Sufliata, 2000; Robertson, Bowman, Franzmann et al., 2001; Townsend, Prince, Sufliata, 2004). Поэтому ускорение естественного самоочищения таких подземных вод может быть достигнуто активизацией деятельности анаэробного сульфатвосстанавливающего сообщества путем добавления дополнительных легкометаболизируемых микроорганизмами субстратов (например органических кислот или углеводов) (Kaiser, Bollag, 1990). Образующийся в процессе сульфатредукции сероводород будет мигрировать с током подземных вод, окисляться до элементарной серы на окислительном геохимическом барьере и выпадать в осадок. В настоящее время на Полазнинском месторождении авторами ведется разработка методов очистки нефтезагрязненных подземных вод за счет интенсификации деятельности анаэробных микроорганизмов.

Исследования выполнены при поддержке гранта РФФИ №04-05-96039-p2004урал_a

Список литературы

- Бузмаков С.А., Костарев С.М. Техногенные изменения компонентов природной среды в нефтедобывающих районах Пермской области. Пермь, 2003. 171 с.
- Горбунова К.А., Максимович Н.Г. Техногенное воздействие на закарстованные территории Пермской области. // География и природные ресурсы. 1991. № 3. С. 42–46.
- Квасников Е.И., Ключникова Т.М. Микроорганизмы – деструкторы нефти в водных бассейнах. Киев: Наукова думка, 1981. 132 с.
- Коронелли Т.В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводородов в окружающей среде // Прикл. биохим. и микробиол. 1996. Т. 32, № 6. С. 579–585.
- Максимович Н.Г., Казакевич С.В. Геоэкологические особенности Полазнинского месторождения нефти // Геология и полезные ископаемые Западного Урала: Материалы регион. науч.-практ. конф. Пермь, 2004. С. 277–280.
- Морозов Н.В., Николаев В.Н. Влияние условий среды на развитие нефтеразлагающих микроорганизмов // Гидробиол. журн. 1978. Т. 14, № 4. С. 55–59.
- Caldwell M.E., Tanner R.S., Sufliata J.M. Microbial metabolism of benzene and the oxidation of ferrous iron under anaerobic conditions: Implication for bioremediation // Anaerobe. 1999. Vol. 5. P. 595–603.
- Coates J.D., Woodward J., Allen J. et al. Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and alkanes in petroleum-contaminated marine harbor sediments // Appl. Environ. Microbiol. 1997. Vol 63, iss 9. P. 3589–3593.
- Criddle C.S., McCarty P.L., Elliott M.C. et al. Reduction of hexachloroethane to tetrachloroethylene in groundwater // J. Contaminant Hydrol. 1986. Vol. 1. P. 133–142.
- Edwards E.A., Grbic-Galic D. Complete mineralization of benzene by aquifer microorganisms under strictly anaerobic conditions // Appl. Environ. Microbiol. 1992. Vol. 58. P. 2663–2666.
- Elmen J., Pan W., Leung S.Y. et al. Kinetics of toluene degradation by a nitrate-reducing bacterium isolated from a groundwater aquifer // Biotech. Bioeng. 1997. Vol. 55. P. 82–90.
- Ghiorse W.C., Wilson J.T. Microbial ecology of the terrestrial subsurface // Adv. Appl. Microbiol. 1988. Vol. 33. P. 107–172.
- Kaiser J.-P., Bollag J.-M. Microbial activity in the terrestrial subsurface // Experientia. 1990. Vol. 46. P. 797–806.
- Kleikemper J., Schroth M.H., Sigler W.V. et al. Activity and diversity of sulfate-reducing bacteria in a petroleum hydrocarbon-contaminated aquifer // Appl. Environ. Microbiol. 2002. Vol. 68. P. 1516–1523.
- Kolbel-Boelke J., Anders E.-M., Nehr Korn A. Microbi-

- al communities in the saturated groundwater environment. II: Diversity of bacterial communities in a pleistocene sand aquifer and their *in vitro* activities // *Microb. Ecol.* 1988. Vol. 16. P. 31–48.
- Kropp K.G., Davidova I.A., Suflita J.M.* Anaerobic oxidation of n-dodecane by an addition reaction in a sulfate-reducing bacterial enrichment culture // *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. Vol 66, iss 12. P. 5393–5398.
- Lovley D.R.* Microbial Fe(III) reduction in subsurface environments // *FEMS Microbiol. Rev.* 1997. Vol. 20. P. 305–313.
- Robertson W.J., Bowman J.P., Franzmann P.D. et al.* *Desulfosporosinus meridiei* sp nov., a spore-forming sulfate-reducing bacterium isolated from gasoline-contaminated groundwater // *Int. J. Syst. Evolut. Microbiol.* 2001. Vol. 51. P. 133–140.
- Townsend T.G., Prince R.C., Suflita J.M.* Anaerobic biodegradation of alicyclic constituents of gasoline and natural gas condensate by bacteria from an anoxic aquifer // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2004. Vol. 49. P. 129–135.

Поступила в редакцию 20.05.2006

Use of autochthonous microflora for purification of oil polluted ground water

G.N. Maximovich, V.T. Khmurchik

The remediation techniques of oil-polluted environments are observed. Authors tested the biotechnological method based on the usage of autochthonous microflora biopreparation to remediate ground water. The results of the test are discussed.