

**Горшкова О.Г., Самофалов М.О.**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна

### **РОЗРОБКА БІОТЕХНОЛОГІЇ ОЧИЩЕННЯ БЕРЕГОВОЇ ЗОНИ О. ЗМІЙНИЙ ВІД ВУГЛЕВОДНІВ НАФТИ**

*Developed biotechnology cleaning coastal zone of Zmiinyi island of petroleum carbohydrates using bacteria-destructors. Of contaminated oil saline soil of Zmiinyi island isolated 2 strains biochemically active bacteria. The results of the study biological properties and fatty acid composition isolated strains were identified as *Pseudomonas fluorescens* 1<sub>7</sub>, and *Bacillus megaterium* 2<sub>2</sub>. Develop technological system soil cleaning oil. Laboratory tests showed perspectives of using developed biotechnology to clean the coastal zone of Zmiinyi island of petroleum carbohydrates*

Важливою проблемою є створення нових біотехнологій на основі аборигенних штамів мікроорганізмів-деструкторів, що пристосовані до жорстких умов існування у конкретному регіоні [1-3].

В зв'язку з цим метою роботи була розробка біотехнології очищення берегової зони о. Зміїний від вуглеводнів нафти з застосуванням бактерій-деструкторів.

Експериментальна частина роботи виконана в Науково-навчальному біотехнологічному центрі Одеського університету імені І. І. Мечникова.

Матеріалом для дослідження були мікроорганізми виділені з забрудненого нафтопродуктами ґрунту острові Зміїний.

В роботі використовували класичні бактеріологічні методи, автоматичну систему ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock (MIDI, USA) на базі газового хроматографа Agilent 7890, метод інфрачервоної (ІЧ) спектроскопії.

З нафтозабрудненого ґрунту о. Зміїний виділено 2 штами мікроорганізмів, здібних зростати на агаризованому середовищі МКД з додаванням нафти.

Домінантними в жирнокислотному профілі штаму *Bacillus* sp. 2<sub>2</sub> були ізомери насичених жирних кислот (56,6%), із яких 16,9% і 23,3% припадало на ізомери C<sub>13</sub>:0 і C<sub>15</sub>:0. Характерною особливістю є те, що при однаковій кількості атомів вуглецю у вуглеводневого радикалу (C<sub>16</sub>) сумарна доля насичених ЖК C<sub>16</sub>:0 (2,6%) і C<sub>16</sub>:0 iso (4,8%) в 1,78 рази менше за долю ненасичених ЖК C<sub>16</sub>:1 w6c / C<sub>16</sub>:1 w7c (13,3%). Відмінністю штаму *Pseudomonas* sp. 1<sub>7</sub> від штаму *Bacillus* sp. 2<sub>2</sub> є незначне зростання коефіцієнту насиченості з 4,2 до 4,8.

За одержаним жирнокислотним складом, розшифрованим з використанням бібліотечної бази даних досліджувані мікроорганізми ідентифіковані як бактерії роду *Bacillus* та *Pseudomonas*.

За біологічними властивостями штам *Pseudomonas* sp. 1<sub>7</sub>, виділений з забрудненого нафтою ґрунту о. Зміїний, був ідентифікований як *Pseudomonas fluorescens* 1<sub>7</sub>, штам *Bacillus* sp. 2<sub>2</sub> - як *Bacillus megaterium* 2<sub>2</sub>.

Досліджувані штами мікроорганізмів володіли нафтоокиснювальною активністю. Через 90 діб експозиції ступінь біодеструкції вуглеводнів нафти при використанні штаму *Pseudomonas fluorescens* 1<sub>7</sub> сягав 76,4 %, штаму *Bacillus megaterium* 2<sub>2</sub> - 63,5 %.

З метою розробки біотехнології очищення ґрунтів острова Зміїний від нафтопродуктів у експедиційних умовах відбирали і доставляли до лабораторії зразки ґрунту з ділянки найбільш вираженого хронічного забруднення [4]. Вихідний вміст нафтопродуктів складав 41,54±2,23 г/кг ґрунту. У лабораторних умовах при температурі 25 °С був закладений експеримент з очищення ґрунту від нафтопродуктів.

Використана нами технологія передбачала застосування біопрепарату, що являє собою клітини бактерій *Bacillus megaterium* 2<sub>2</sub> і *Pseudomonas fluorescens* 1<sub>7</sub>, імобілізовані за спеціальною біотехнологією на торфі та соломі.

Технологічна схема очистки ґрунту від нафтопродуктів включала переорювання ґрунту, нанесення шару сорбентів і біопрепарату, зрошування рідкою культурою консорціума бактерій *Bacillus megaterium* 2<sub>2</sub> і *Pseudomonas fluorescens* 1<sub>7</sub>, засів ділянки трав'янистими рослинами та сидерацію.

Лабораторні випробування показали, що використання імобілізованих на природних субстратах бактерій *Bacillus megaterium* 2<sub>2</sub> і *Pseudomonas fluorescens* 1<sub>7</sub> сприяє очищенню ґрунту від нафтопродуктів. Через 150 діб після початку випробувань зміст нафтопродуктів у ґрунті знизився до 4,005±0,11 г/кг ґрунту (96,42 %) від початкового рівня 41,54±2,23 г/кг ґрунту.

На підставі проведених досліджень можна зробити висновок про те, що використання пристосованих до жорстких умов існування на о. Зміїний аборигенних штамів бактерій-деструкторів вуглеводнів нафти *Bacillus megaterium* 2<sub>2</sub> і *Pseudomonas fluorescens* 1<sub>7</sub> є перспективним при створенні сучасних вискоєфективних біотехнологій очистки ґрунту від нафтопродуктів.

#### Література

1. Белик Е.С., Рудакова Л.В., Калашникова М.Е. Оценка эффективности применения биосорбента на основе карбонизата в процессе деструкции углеводородов нефти // Теоретическая и прикладная экология. – 2013. - № 1. – С. 22-26.
2. Гоголева О.А., Немцева Н.В. Углеводородокисляющие микроорганизмы природных экосистем // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2012, № 2. – С. 1-7.
3. Григориади А.С. Оценка эффективности применения биопрепаратов и фитомелиорантов в биоремедиации нефтезагрязненных почв : диссертация ... кандидата биологических наук : 03.01.06, 03.02.08 / Григориади Анна Сергеевна; [Место защиты: Ин-т биологии Уфим. науч. центра РАН].- Уфа, 2010.- 227 с.: ил. РГБ ОД, 61 11-3/300.
4. Гудзенко Т.В. та ін. Визначення вмісту нафтопродуктів і водорозчинних солей у ґрунті на нафтозабруднених ділянках острова Зміїний перед їх біотехнологічною обробкою // Міжвідомчий тематичний науковий збірник “Агрохімія і ґрунтознавство” (Харків) – 2015. – Вип. 82. – С. 68-74.