

ЕҢБЕК ҚЫЗЫЛ ТУ ОРДЕНДІ
«Ә. Б. БЕКТҰРОВ АТЫНДАҒЫ
ХИМИЯ ҒЫЛЫМДАРЫ ИНСТИТУТЫ»
АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ

ҚАЗАҚСТАННЫҢ ХИМИЯ ЖУРНАЛЫ

ХИМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ КАЗАХСТАНА

CHEMICAL JOURNAL of KAZAKHSTAN

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
«ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКИХ НАУК
им. А. Б. БЕКТУРОВА»

4 (60)

ОКТАБРЬ – ДЕКАБРЬ 2017 г.
ИЗДАЕТСЯ С ОКТАБРЯ 2003 ГОДА
ВЫХОДИТ 4 РАЗА В ГОД

АЛМАТЫ
2017

УДК 504.53.052:504.054:543.064:543.21:543.544.3

*Р. А. НАРМАНОВА¹, А. Е. ФИЛОНОВ², Н. О. АППАЗОВ¹,
И. Ф. ПУНТУС², А. Т. ЖУНИСОВ¹, Л. И. АХМЕТОВ², Т. В. ФУНТИКОВА²*

¹Кызылординский государственный университет им. Коркыт Ата,
Кызылорда, Республика Казахстан,

²Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина РАН РФ,
Пушино, Российская Федерация

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ ПОЧВ НЕФТЕГАЗОНОСНЫХ МЕСТОРОЖДЕНИЙ ЮЖНО-ТУРГАЙСКОГО ПРОГИБА РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Аннотация. С использованием гравиметрического и хроматографического методов получены данные об уровне загрязнения почвы, природе и составе загрязнителя. Микробиологическим анализом определены численность аборигенной микрофлоры (10^6 – 10^7 кл/г почвы), в том числе аборигенных микроорганизмов-нефтедеструкторов (10^4 – 10^6 кл/г почвы). Определено, что целесообразно применение метода биоаугментации, т.е. внесение эффективных микроорганизмов-нефтедеструкторов в составе биопрепаратов, что обеспечит эффективную очистку от нефтяных загрязнений в кратчайшие сроки. Показано, что исследования позволяют разработать оптимальную стратегию биоремедиации нефтезагрязненных территорий Южно-Тургайского прогиба Республики Казахстан в условиях жаркого аридного климата.

Ключевые слова: углеводороды, хроматография, нефтедеструкторы, биоремедиация, биопрепараты, нефтезагрязнения, бенз(а)пирен, микроорганизмы.

Нефтяная промышленность по опасности воздействия на окружающую среду занимает третье место в числе 130 отраслей современного производства. Пропитывание нефтью почвы приводит к существенным изменениям ее химического состава, свойств и структуры. Прежде всего, это сказывается на гумусовом горизонте: количество углерода в нем резко увеличивается, но ухудшается свойство почв как питательного субстрата для растений. Состав свежедобытой (сырой) нефти, попавшей в окружающую среду, может существенно изменяться вследствие воздействия физических, химических и биологических факторов. Отдельные компоненты нефти и продуктов ее биоразложения, преимущественно полиароматические и полициклические соединения, отличаются мутагенностью, канцерогенными свойствами и тератогенностью. Последствия их воздействия на живые организмы, в том числе и на человека, могут проявляться через многие годы и в последующих поколениях [1].

В нефтезагрязненной почве изменяется структура микробного сообщества [2-5], подавляется фотосинтетическая активность высших растений [6-9], происходит изменение микрорельефа, т.е. существенно изменяется ее общее состояние. Таким образом, следствием воздействия нефти являются

глубокие изменения физических и агрохимических свойств почвы, а также токсический стресс, которому подвергается почвенная биота [10].

Проблема охраны окружающей среды от загрязнений нефтью, а также их утилизации приобретает все большую остроту в связи с ограниченностью возможностей, а иногда и экологической небезопасностью применения для этих целей механических, физических и химических способов очистки. Утилизации подлежат все нефтеотходы, хранящиеся в местах складирования, а также вновь образовавшиеся нефтезагрязненные грунты, собранные с мест аварийных разливов нефти. Загрязненный субстрат содержит различное количество нефтепродуктов в зависимости от морфологических, структурных, физико-химических и генетических особенностей конкретного почвенного покрова. Нефтяные загрязнения могут быть как свежими, так и давними с повышенным содержанием парафинов, смол, асфальтенов. Контролируемым показателем в загрязненном грунте должно быть не только содержание нефтепродуктов, но и бенз(а)пирена, количество нефтеокисляющих и сапрофитных микроорганизмов.

В комплексе процессов очищения почвенных экосистем ведущее место принадлежит биологическим факторам, а именно углеродооксилирующим микроорганизмам (УОМ). Благодаря их деятельности, нефть трансформируется до простых соединений, происходит накопление органического вещества и его включение в кругооборот углерода в экосистемах. На способности микроорганизмов разлагать сложные органические соединения нефти основан процесс биоремедиации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами [11].

В связи с этим актуальной является возможность использования для очистки от загрязнений нефтью микроорганизмов, способных расти и утилизировать углеводороды в среде с высоким содержанием нефти. Применение новых биопрепаратов и технологий биоремедиации загрязненных нефтью и нефтепродуктами территорий обеспечит улучшение экологической ситуации на нефтегазодобывающих месторождениях.

Известно, что методы биологической очистки применимы в условиях умеренного и жаркого климата, однако, при этом должны учитываться специфические особенности процессов биоремедиации. Аридность территории, сильные ветры, засоление почв и вод усиливают негативное воздействие загрязнения окружающей среды, возникающее в процессе добычи, транспортировки и переработки нефти.

В Республике Казахстан общая площадь действующих и перспективных нефтегазоносных месторождений занимает более 60% всей территории страны, а действующими являются более 200 нефтегазовых месторождений, находящихся на территории Кызылординской, Актюбинской, Атырауской, Западно-Казахстанской и Мангистауской областей [12]. Следует отметить, что данные территории находятся в климатической зоне с преобладанием высоких температур в летний период 45–48°C в тени, а почва представляет собой солончаки с содержанием соли 3-4%.

Поэтому **цель настоящей работы** – проведение комплексных экологических исследований состояния загрязненных нефтью почв в климатической зоне с преобладанием высоких температур в летний период, очень низкими показателями влажности и содержания органических веществ, а именно, исследование уровня и характера загрязнения, а также численности и активности почвенных углеводородокисляющих микроорганизмов месторождений Южно-Тургайского прогиба Республики Казахстан.

Объекты исследования – почвы, загрязненные нефтью месторождения «Кумколь» (АО «ПетроКазахстанКумкольРесорсиз») и «Ащисай» (АО «КОР»).

Содержание остаточных нефтепродуктов определяется для оценки уровня загрязнения грунта и выработки оптимальной стратегии ремедиации загрязненных территорий. Содержание бенз(а)пирена определяется для оценки степени опасности грунта в соответствии с санитарно-гигиеническими критериями.

ИК-спектры нефтезагрязненных проб снимали на ИК-Фурье спектрометре IRPrestige-21 фирмы Shimadzu (Япония). ИК-спектры углеводородов характеризуются появлением полос поглощения, обусловленных связями С–С и С–Н. Характерные полосы углеводородов, связанные с характеристическими частотами С–Н (метильные, метиленовые и метиновые группы), находятся в трех областях: $3000\text{--}2800\text{ см}^{-1}$, $1400\text{--}1300\text{ см}^{-1}$ и около 700 см^{-1} [13].

В ИК-спектре исследуемых проб наблюдали характерные полосы поглощения в областях $2953\text{--}2848$, $1398\text{--}1377$ и $694\text{--}761\text{ см}^{-1}$, что говорит о присутствии в почве углеводородов нефти. ИК-спектры исследуемых проб приведены на рисунках 1 и 2. Это дает предпосылку для количественного определения уровня загрязнения почв нефтью.

Содержание нефти в загрязненной почве определяли гравиметрическим методом [14]. Методика РД 52.18.647-2003 предназначена для использования в лабораториях, выполняющих измерения в области мониторинга загрязнения окружающей среды и количественного химического анализа, используемой для определения уровней загрязнения почв нефтью и позволяет определять массовую долю нефти в диапазоне от 20 до 500 000 мг/кг.

Нефтепродукты экстрагировали из проб почвы хлороформом. Очистку экстракта проводили на колонке с оксидом алюминия после замены растворителя на гексан. Определяли содержание нефтепродуктов в экстракте взвешиванием после упаривания растворителя.

Результаты гравиметрического анализа приведены в таблице 1.

Из данных таблицы 1 следует, что уровень загрязнения углеводородами нефти образцов почвы, отобранных на территории нефтяных месторождений Ащисай, в 8,5 раза выше по сравнению с уровнем загрязнения месторождения Кумколь и составляет, соответственно, $102\ 686,6\text{ мг/кг}$ и $12\ 123,33\text{ мг/кг}$.

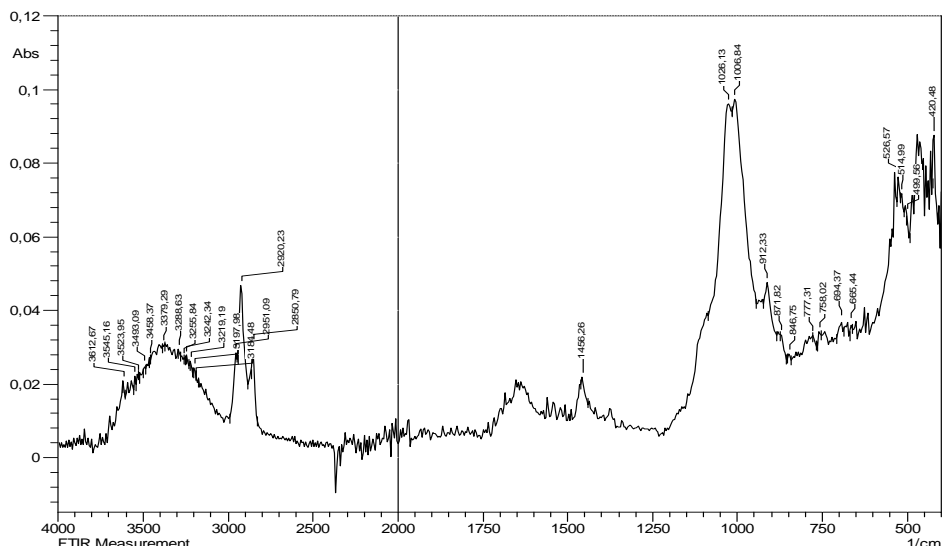


Рисунок 1 – ИК-спектр нефтезагрязненной почвы месторождения «Кумколь» (АО «ПетроКазахстанКумкольРесорсиз»)

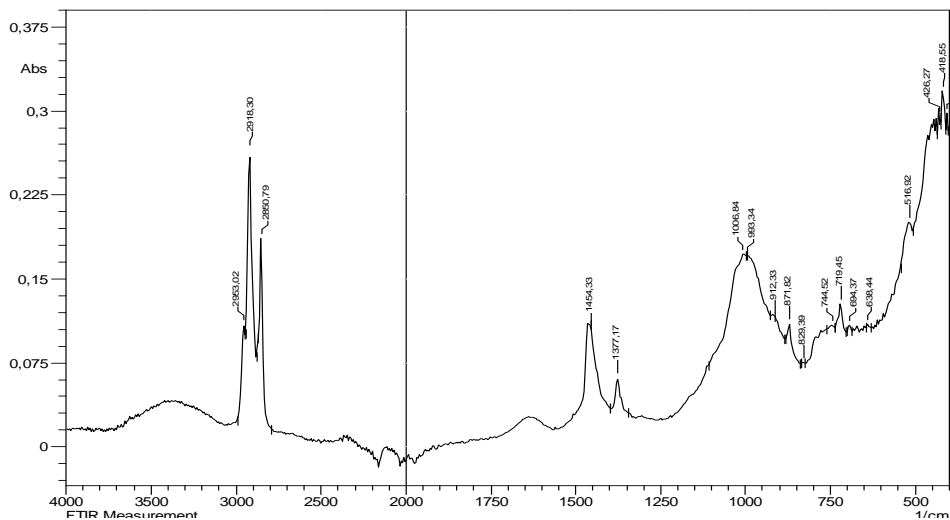


Рисунок 2 – ИК-спектр нефтезагрязненной почвы месторождения «Ащисай» (АО «КОР»)

Таблица 1 – Содержание нефти в исследуемых почвенных образцах

№	Месторождение	Содержание нефти в загрязненной почве, мг/кг
1	«Кумколь» (АО «Петро КазахстанКумкольРесорсиз»)	12 123,33
2	«Ащисай» (АО «КОР»)	102 686,6

С природоохранных позиций выделяют несколько уровней загрязнения земель нефтью и нефтепродуктами [15], в соответствии с которыми предлагаются мероприятия по рекультивации. Согласно полученным результатам, загрязнение нефтью почвы месторождения Кумколь соответствует уровню, при котором наблюдается неравновесный минимальный оптимум для микроорганизмов (концентрация остаточных нефтепродуктов от 8 до 14 г/кг почвы), поэтому требуются агротехнические мероприятия для улучшения водно-воздушных свойств почв, при этом необходим контроль содержания бенз(а)пирена.

Загрязнение нефтепродуктами почв месторождения Ащисай соответствует уровню, при котором происходит угнетение сапротрофной экосистемы (пессимум). В данном случае загрязнение остаточными нефтепродуктами колеблется от 72 до 132 г/кг почвы. Почва становится токсичной. Необходимы полномасштабные санационные и рекультивационные действия, включая применение биопрепаратов, для нормализации водно-воздушного режима, активизации автохтонного сообщества микроорганизмов и деградации нефтепродуктов.

Таким образом, загрязнение исследуемых образцов почв с нефтегазового месторождения Южно-Тургайского прогиба «Кумколь» и «Ащисай» соответствует 3 и 6 уровню, когда требуется проведение биоремедиационных мероприятий для восстановления почвенных экосистем, также необходим контроль за миграцией углеводородов нефти, особенно бенз(а)пирена [15].

Газохроматографическое определение суммарного содержания нефтепродуктов в почве, включающее экстракцию контролируемых компонентов гексаном, отделение полярных соединений на колонке с оксидом алюминия, концентрирование и анализ полученного экстракта на газовом хроматографе при программировании температуры разделительной колонки дает возможность детально исследовать состав нефтяных углеводородов.

Изучение углеводородного состава нефти, извлеченной из загрязненных почвенных образцов, проводили с помощью газового хромато-масс-спектрометра Agilent 7890A/5975C.

Хроматографический анализ проведен согласно методике, приведенной в работе [16]. Условия хроматографирования при анализе нефти, выделенной из почвы: газовый хроматограф 7890A с масс-селективным детектором 5975C фирмы Agilent (США); подвижная фаза (газ-носитель) – гелий; температура испарителя 350°C, сброс потока (Split) – 30:1; температура термостата колонки, начало 70°C, подъем температуры 4°C в минуту, конец 290°C, при этой температуре удерживается 30 мин, общее время анализа 85 мин; режим ионизации масс-детектора методом электронного удара. Капиллярная хроматографическая колонка HP-5MS, длина колонки 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, неподвижная фаза – диметилполисилоксан (95%), дифенилполисилоксан (5%).

На рисунках 3 и 4 приведены хроматограммы исследованных нефтей, извлеченных из загрязненных почв. Углеводородный состав нефтей, выделенных из загрязненных почв, приведен в таблице 2.

По результатам хроматографического анализа найдено, что нефть, выделенная из загрязненной почвы месторождения «Кумколь», содержит 60,09% алканов (из них 12,38% разветвленные, 47,71% неразветвленные), 0,82% нафтенов и 0,70% аренов. Нефть, выделенная из загрязненной почвы

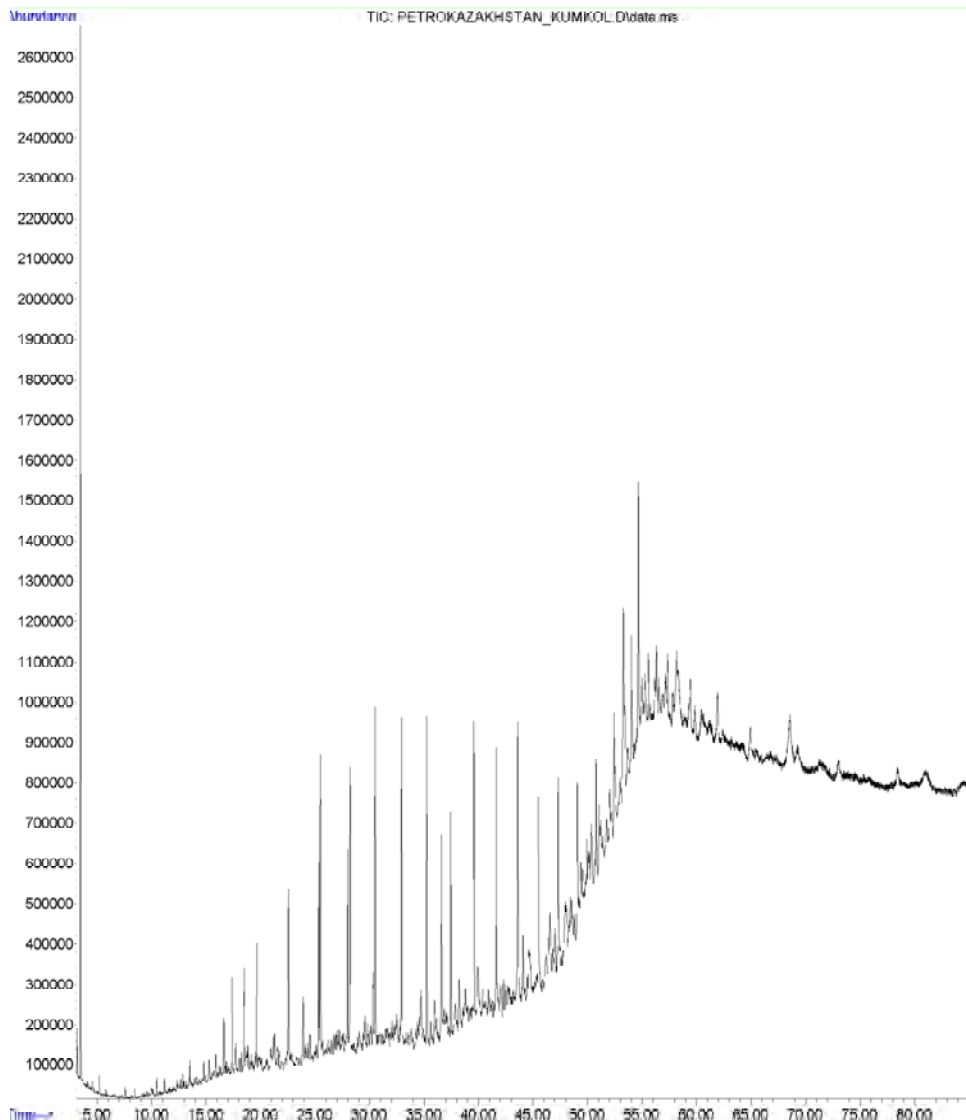


Рисунок 3 – Хроматограмма углеводородов нефтезагрязненной почвы месторождения Кумколь (АО «Петро КазахстанКумкольРесорсиз»)

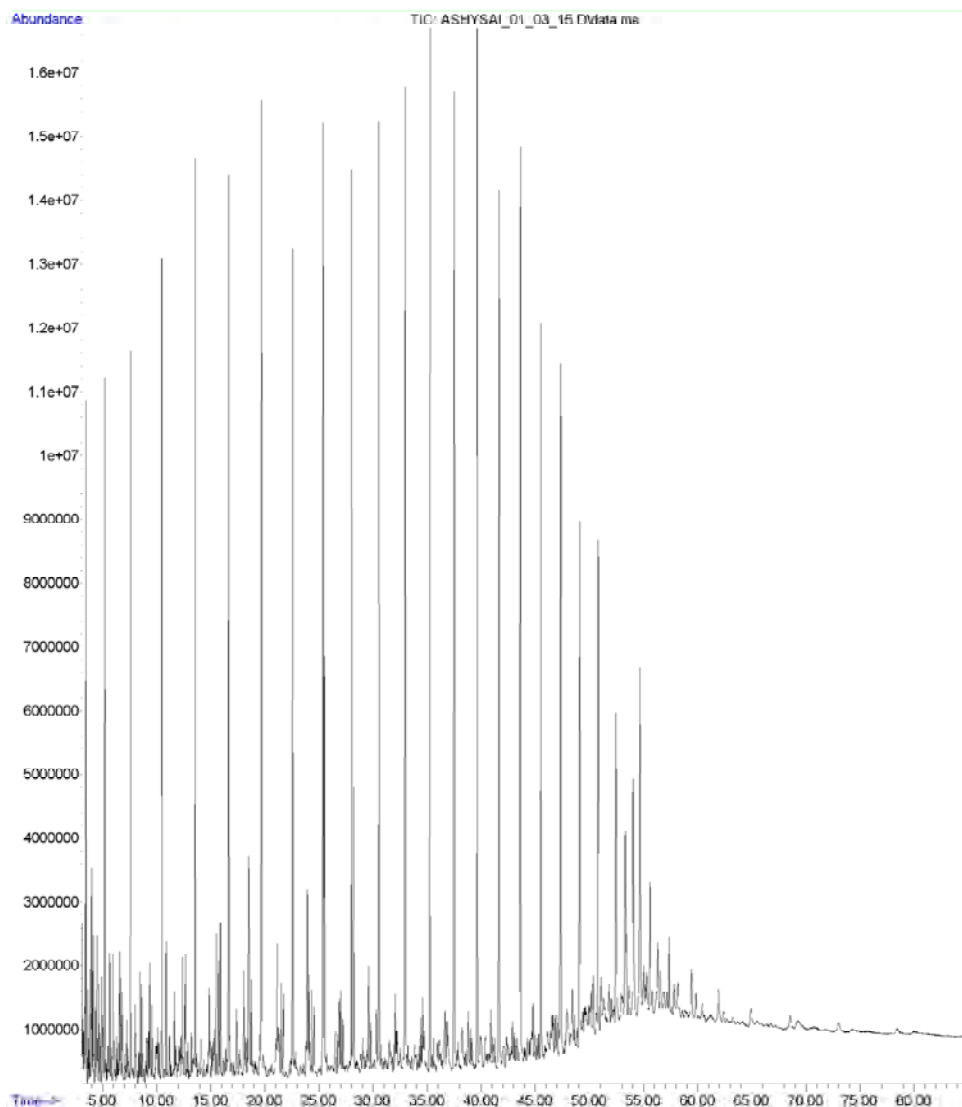


Рисунок 4 – Хроматограмма углеводородов нефтезагрязненной почвы месторождения Ащисай (АО «КОР»)

Таблица 2 – Состав углеводородов нефтезагрязненных почв, %

Месторождение	Алканы		Нафтены	Арены	Другие соединения
	неразветвленные	разветвленные			
Кумколь (АО «Петро КазахстанКумкольРесорсиз»)	47,71	12,38	0,82	0,70	38,40
Ащисай (АО «КОР»)	65,28	12,36	6,73	3,72	11,91

месторождения «Ащисай», содержит 77,64% алканов (из них 12,36% разветвленные, 65,28% неразветвленные), 6,73% нафтенов и 3,72% аренов. Также в нефтях, выделенных из загрязненной почвы месторождений «Кумколь» и «Ащисай», содержатся кислород-, серо-, галогенсодержащие производные углеводов.

Для оценки микробного сообщества из исследуемых образцов почвы делали высевы на богатые и селективные среды. Оценивали общую численность микроорганизмов, а также численность деструкторов углеводов нефти.

Общую численность микроорганизмов учитывали на богатой агаризованной среде Лурия-Бертани [17], содержащем (в г/л): бакто-триптон («Difco», США) – 10 г, дрожжевой экстракт («Difco», США) – 5 г, NaCl – 10 г.

Для учета деструкторов нефти и дизельного топлива использовали среду Эванса [18] следующего состава (г, мл/л): K_2HPO_4 – 8,71 г, 5M р-р NH_4Cl – 1 мл, 0,1 M р-р Na_2SO_4 – 1 мл, 62 мМ р-р $MgCl_2$ – 1 мл, 1мМ р-р $CaCl_2$ – 1 мл, 0,005 мМ р-р $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ – 1 мл, микроэлементы – 1 мл, pH 7,0. Состав раствора микроэлементов в 1% HCl, (г/л): ZnO – 0,41, $FeCl_2 \cdot 6H_2O$ – 5,4, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ – 2,00, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ – 0,17, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ – 0,48, H_3BO_3 – 0,06. Для обеспечения роста бактерий добавляли $(NH_4)_2SO_4$ (1 г/л) в качестве источника азота.

Для получения агаризованной среды добавляли агар («Pronadisa», Испания) из расчета 16 г/л жидкой среды.

После приготовления все среды подвергали автоклавированию при давлении 1 атм и 120°C в течение 30 мин.

Микроорганизмы высевали из приготовленных разведений на агаризованные среды (метод прямого посева). Для этого 100 мкл микробной суспензии, взятой из соответствующих разведений, наносили на поверхность агаризованной среды и втирали микробиологическим стеклянным шпателем. В случае среды Эванса в качестве источника углерода и энергии использовали дизельное топливо или нефть. Чашки инкубировали при 24°C.

Микроорганизмы-деструкторы дизельного топлива культивировали на агаризованной среде в парах дизельного топлива в течение 14 сут; для этого дизельное топливо (200 мкл) наносили на крышку перевернутой чашки Петри.

Нефтедеструкторы культивировали в течение 14 сут на агаризованной среде с добавлением жидкой нефти (2% об./об.). Для приготовления среды с нефтью использовали ультразвуковой дезинтегратор MSE-150 (Великобритания). В колбы объемом 300 мл вносили 150 мл среды Эванса, добавляли 3 г агара и 1,5 г нефти. После стерилизации еще горячую среду диспергировали на ультразвуковом дезинтеграторе при максимальной амплитуде в течение 3 мин. При необходимости диспергирование повторяли несколько раз. Полученную таким образом агаризованную среду с диспергированным углеводородным субстратом сразу же разливали в чашки Петри.

Во всех случаях подсчитывали выросшие колонии в трех повторах, полученное значение усредняли, и пересчитывали исходя из вышеописанных разведений на 1 г почвы (таблица 3).

Таблица 3 – Результаты микробиологического анализа почвенных образцов с месторождений «Кумколь» и «Ащисай»

Пробы почвы	Общая численность микроорганизмов, кл/г почвы	Численность микроорганизмов – деструкторов дизельного топлива, кл/г почвы	Численность микроорганизмов – деструкторов нефти, кл/г почвы
«Кумколь» (АО «Петро КазахстанКумкольРесорсиз»)	$4,2 \cdot 10^7$	$1,4 \cdot 10^7$	$2,0 \cdot 10^6$
«Ащисай» (АО «КОР»)	$4,2 \cdot 10^6$	$7,3 \cdot 10^5$	$4,0 \cdot 10^4$

Проведенный микробиологический анализ образцов загрязненной почвы показал низкую численность аборигенной микрофлоры (10^6 – 10^7 кл/г почвы). Численность аборигенных микроорганизмов-нефтедеструкторов составила 10^4 – 10^6 кл/г почвы. Наименьшая численность микроорганизмов, включая нефтедеструкторы, отмечена в образцах из месторождения «Ащисай», что, по-видимому, обусловлено более высоким уровнем загрязнения нефтепродуктами (таблица 2).

Далее из исследуемых образцов выделяли культуры штаммов-нефтедеструкторов как с использованием метода прямого посева, так и с помощью метода накопительных культур. Для получения накопительных культур в качалочные колбы с почвенной суспензией и жидкой минеральной средой Эванса с добавлением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1 г/л среды) вносили 2% (об./об.) нефти и инкубировали при температурах 4, 24 и 30°C. Затем после соответствующих разведений делали посева на чашки Петри с агаризованной средой Лурия-Бертани и расчищали до отдельных колоний. Чистые культуры проверяли на способность утилизировать нефть и дизельное топливо (2% (об./об.)) в жидкой минеральной среде Эванса с добавлением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1 г/л среды) в стеклянных качалочных пробирках на орбитальной качалке при соответствующих температурах в течение 7 сут.

Определение субстратной специфичности выделенных культур осуществляли с помощью метода реплик. Нафталин/фенол/дизельное топливо вносили на перевернутую крышку чашки Петри. Тoluол/этилбензол вносили в силиконовые колечки (по 100–200 мкл) для осуществления равномерного и медленного процесса образования паров ростового субстрата в чашках. Чашки инкубировали 4–7 сут.

Структуру клеточной стенки (по Граму) выделенных культур-деструкторов определяли экспресс-методом с использованием 3%-го раствора КОН [19].

Результаты экспериментов сводили в таблице 4.

Таблица 4 – Характеристика активных штаммов-деструкторов из нефтезагрязненных почв различных м/р Республики Казахстан

Место-рождение/ культура	Реакция по Граму	EtBz	Tol	Nah	Phl	Nph	Hd	Dsf	LK 24°C	L 7%	L 9%	4°	30°
<i>Ащисай (АО «КОР»)</i>													
ASH1-2-24DT	+ слабый рост на L-агаре	±	±	-	+	±	+	+	+	+	-	+	
ASH1-2-24N	+	±	±	-	+	+	+	+	+	+	-	+	
ASH2-1N	+	±	±	-	+	+	+	+	+	+	-	+	
ASH2-5-DTO	+	±	±	-	+	±	+	+	+	+	-	+	
ASH2-5-24N	+	±	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	
ASH2-7-24N	+	±	±	-	+	+	+	+	+	+	-	+	
<i>Кумколь (АО «Петро КазахстанКумкольРесорсиз»)</i>													
PPN5PVDT	+	±	±	-	-	±	+	+	+	+	-	+	
PPN5PVDTBac	+	±	±	-	-	±	+	+	+	+	-	-	
PPN5PVN	+	±	±	-	+	+	+	+	+	+	-	+	
PPN3TRNO	+	±	±	-	-	+	+	+	+	+	-	+	
PPN1EDT	+ не растет на E-агаре	-	-	-	-	-	±	-	+	+	-	-	
PPN1-24N	-	-	-	-	-	+	±	-	+	+	-	-	
<p><i>Примечание.</i> EtBz – рост на агаризованной среде Эванса с этилбензолом, Tol – рост на агаризованной среде Эванса с толуолом, Nah – рост на агаризованной среде Эванса с нафталином, Phl – рост на агаризованной среде Эванса с фенолом, Dsf – рост в жидкой среде Эванса с дизельным топливом (2% об./об.), Nph – рост в жидкой среде Эванса с нефтью (2% об./об.), LK – контроль роста на среде Лурия-Бертани (1% соли), L7% и L9% – рост на среде Лурия-Бертани с 7 и 9% соли, соответственно, 4 и 30°C – рост на среде Лурия-Бертани при 4 и 30°C, соответственно, E- и L-агар – агаризованная среда Эванса и Лурия-Бертани, соответственно; «+» – хороший рост, «±» – умеренный рост, «-» – отсутствие роста.</p>													

В ходе работы из почвенных образцов выделено 12 культур микроорганизмов – деструкторов углеводов нефти (таблица 4): из почвы месторождения «Ащисай» – 6 культур; из почвы месторождения «Кумколь» – 6 культур.

Все культуры способны к деградации углеводов в широком температурном диапазоне (4-37°C), в том числе при солёности среды до 7%.

Выделенные культуры способны утилизировать длинноцепочечные алканы (гексадекан), почти все культуры из месторождений «Кумколь» и «Ащисай» потребляют моноароматические углеводороды – этилбензол и

толуол, все культуры из «Ащисай», в отличие от «Кумколь», утилизируют фенол. Способности утилизировать выделенными культурами полиароматические соединения (нафталин) не обнаружено.

Подавляющее большинство выделенных культур являются грамположительными. Семь из 11 наиболее эффективных штаммов-нефтедеструкторов были идентифицированы как представители рода *Rhodococcus* на основании секвенирования гена 16S РНК. Эти штаммы послужат основой для разработки биопрепаратов, используемых на нефтезагрязненных территориях в условиях жаркого аридного климата.

Таким образом, результаты гравиметрического и хроматографического анализа, а также оценка микробного потенциала дают представление об экологическом состоянии почв месторождений – Месторождение «Кумколь» (АО «ПетроКазахстан Кумколь Ресорсиз») и «Ащисай» (АО «КОР»): о характере загрязнения почвы, природе и составе загрязнителя, а также о численности аборигенных почвенных микроорганизмов и наличии штаммов-нефтедеструкторов. Это позволит выработать оптимальную стратегию биоремедиации нефтезагрязненных территорий Южно-Тургайского прогиба Республики Казахстан.

Загрязнение исследуемых образцов почв с нефтегазового месторождения Южно-Тургайского прогиба «Кумколь» и «Ащисай» соответствует 3 и 6 уровням [14], когда требуется проведение биоремедиационных мероприятий для восстановления почвенных экосистем, также необходим контроль за миграцией углеводородов нефти, особенно бенз(а)пирена.

Наличие аборигенных почвенных микроорганизмов-нефтедеструкторов в загрязненных почвах исследованных месторождений позволяет использовать метод биостимуляции, предполагающий активацию аборигенных нефтеокисляющих микроорганизмов за счет внесения дополнительных источников фосфора и азота в составе удобрений, улучшения водно-воздушного режима (полив, перепахивание). Учитывая высокий уровень загрязнения нефтью почвы месторождения «Ащисай» (АО «КОР») (10,3%), целесообразно применение метода биоаугментации, т.е. внесение эффективных микроорганизмов-нефтедеструкторов в составе биопрепаратов, что обеспечит эффективную очистку от нефтяных загрязнений в кратчайшие сроки.

Исследование проведено на базе аккредитованной лаборатории инженерного профиля «Физико-химические методы анализа» Кызылординского государственного университета им. Коркыт Ата за счет средств грантового финансирования научных исследований на 2015–2017 годы Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Caprino L., Togna G.I. Potential health effects of gasoline and its constituents: A review of current literature (1990–1997) on toxicological data // Environ Health Perspect. – 1998. – Vol. 106. – N 3. – P. 115-125.

- [2] Киреева Н.А. Микробиологические процессы в нефтезагрязненных почвах: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. – СПб., 1996. – 25 с.
- [3] Chaillan F., Chaineau C.H., Point V., Saliot A., Outdot J. Factors inhibiting bioremediation of soil contaminated with weathered oils and drill cuttings // *Environmental Pollution*. – 2006. – Vol. 144, N 1. – P. 255-265.
- [4] Escalante-Espinosa E., Gallegos-Martinez M.E., Favela-Torres E., Gutierrez-Rojas M. Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by *Cyperus laxus* Lam. Inoculated with a microbial consortium in a model system // *Chemosphere*. – 2005. – Vol. 59. – P. 405-413.
- [5] Jirasripongpun K. The characterization of oil-degrading microorganisms from lubricating oil contaminated (scale) soil // *Letters in Appl. Microbiol.* – 2002. – Vol. 35, N 4. – P. 296-300.
- [6] Бородавкин П.П. Охрана окружающей среды при строительстве и эксплуатации магистральных трубопроводов. – М.: Недра, 1981. – 308 с.
- [7] Бузмаков С.А., Ладыгин И.В. Влияние нефтепромыслов на растительный и животный мир Камского Предуралья // Тез. докл. межгос. научн. конф. – Пермь, 1993. – Ч. 1. – С. 201-205.
- [8] Хабибуллин Р.А., Коваленко М.В. Состояние исследований по оценке и ликвидации последствий загрязнения почвы нефтью по её фитотоксичности // Рекультивация земель в СССР: Тез. докл. всесоюзн. науч.-техн. конф. – М., 1982. – Т. 2. – С. 149-152.
- [9] Шилова И.И. Биологическая рекультивация нефтезагрязненных земель в условиях таежной зоны // Восст. нефтезагр. почв. экос. – М.: Наука, 1988. – С. 112-122.
- [10] Бородачук Е.Н., Бадмшина Р.Р. Восстановление загрязненной нефтью почвы. Сб. трудов научной конференции. – Уфа: Нефтегазовое дело, 2010. – С. 201-203.
- [11] Кураков А.В., Ильинский В.В., Котелевцев С.В., Садчиков А.П. Биоиндикация и реабилитация экосистем при нефтяных загрязнениях. – М.: Графикон, 2006. – 336 с.
- [12] Айткельдиева С.А., Файзулина Э.Р., Ауезова О.Н., Татаркина Л.Г., Спанкулова Г.А., Саданов А.К. Активные ассоциации нефтеокисляющих микроорганизмов, выделенных из загрязненных почв месторождения Кумколь // *Микробиология және вирусология*. – 2013. – № 4(3). – С. 11-14.
- [13] Казицына Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. – М.: Высшая школа, 1971. – 264 с.
- [14] Методические указания. Определение массовой доли нефтепродуктов в почвах. Методика выполнения измерений гравиметрическим методом. РД 52.18.647-2003. – Дата введения 2003.06.01.
- [15] Бузмаков С.А., Башин Г.П. Предельно допустимое содержание нефтепродуктов в почвенных экосистемах Пермской области // *Известия вузов. Нефть и газ*. – 2004. – № 2. – С. 91-96.
- [16] Мухамедова Н.С., Исламбекулы Б., Идрисова Д.Т., Тапалова А.С., Жумадилова Ж.Ш., Аппазов Н.О., Шорабаев Е.Ж. Изучение деструкции нефти при обработке органоминеральными удобрениями нефтезагрязненной почвы // *Известия НАН РК. Серия химическая*. – 2014. – № 4(406). – С. 39-43.
- [17] Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. – New York: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. – 480 p.
- [18] Evans C.G.T., Herbert D., Tempest D.B. The continuous cultivation of microorganisms. 2. Construction of a chemostat // *Methods Microbiol.* – 1970. – Vol. 2. – P. 277-327.
- [19] Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д. Г. Звягинцева. – М.: МГУ, 1991. – 304 с.

REFERENCES

- [1] Caprino L., Togna G.I. Potential health effects of gasoline and its constituents: A review of current literature (1990–1997) on toxicological data // *Environ Health Perspect.* 1998. Vol. 106, N 3. P. 115-125.

- [2] Kireeva N.A. Mikrobiologicheskie processy v neftezagrzaznennyh pochvah: Avtoref. dis. ... dokt. biol. nauk. SPb., 1996. 25 p.
- [3] Chaillan F., Chaineau C.H., Point V., Saliot A., Outdot J. Factors inhibiting bioremediation of soil contaminated with weathered oils and drill cuttings // *Environmental Pollution*. 2006. Vol. 144, N 1. P. 255-265.
- [4] Escalante-Espinosa E., Gallegos-Martinez M.E., Favela-Torres E., Gutierrez-Rojas M. Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by *Cyperus laxus* Lam. Inoculated with a microbial consortium in a model system // *Chemosphere*. 2005. Vol. 59. P. 405-413.
- [5] Jirasripongpun K. The characterization of oil-degrading microorganisms from lubricating oil contaminated (scale) soil // *Letters in Appl. Microbiol.* 2002. Vol. 35, N 4. P. 296-300.
- [6] Borodavkin P.P. Ohrana okružhajushhej srede pri stroitel'stve i jekspluatcii magistral'nyh truboprovodov. M.: Nedra, 1981. 308 p.
- [7] Buzmakov S.A., Ladygin I.V. Vlijanie neftepromyslov na rastitel'nyj i zhivotnyj mir Kamskogo Predural'ja // *Tez. dokl. mezghos. nauchn. konf. Perm'*, 1993. Part 1. P. 201-205.
- [8] Habibullin R.A., Kovalenko M.V. Sostojanie issledovanij po ocenke i likvidacii posledstvij zagrzaznenija pochvy neft'ju po ejo fitotoksichnosti // *Rekul'tivacija zemel' v SSSR: Tez. dokl. vsesojuzn. nauch.-tehn. konf. M.*, 1982. Vol. 2. P. 149-152.
- [9] Shilova I.I. Biologicheskaja rekul'tivacija neftezagrzaznennyh zemel' v uslovijah taezhnoj zony // *Vosst. neftezagr. pochv. jekos. M.: Nauka*, 1988. P. 112-122.
- [10] Borodachuk E.N., Badmshina R.R. Vosstanovlenie zagrzaznennoj neft'ju pochvy. Sb. trudov nauchnoj konferencii. Ufa: Neftegazovoe delo, 2010. P. 201-203.
- [11] Kurakov A.V., Il'inskij V.V., Kotelevcev S.V., Sadchikov A.P. Bioindikacija i rehabilitacija jekosistem pri neftjanyh zagrzaznenijah. M.: Grafikon, 2006. 336 p.
- [12] Ajtkel'dieva S.A., Fajzulina Je.R., Auezova O.N., Tatarkina L.G., Spankulova G.A., Sadanov A.K. Aktivnye asociacii nefteokisljajushhih mikroorganizmov, vydelennyh iz zagrzaznennyh pochv mestorozhdenija Kumkol'. // *Mikrobiologija zhəne virusologija*. 2013. N 4(3). P. 11-14.
- [13] Kazicyna L.A., Kupletskaja N.B. Primenenie UF-, IK- i JaMR-spektroskopii v organicheskoj himii. M.: Vysshaja shkola, 1971. 264 p.
- [14] Metodicheskie ukazaniya. Opredelenie massovoj doli nefteproduktov v pochvah. Metodika vypolnenija izmerenij gravimetricheskim metodom. RD 52.18.647-2003. Data vvedenija 2003.06.01.
- [15] Buzmakov S.A., Bashin G.P. Predel'no dopustimoe sodержanie nefteproduktov v pochvennyh jekosistemah Permskoj oblasti // *Izvestija vuzov. Neft' i gaz*. 2004. N 2. P. 91-96.
- [16] Muhamedova N.S., Islambekuly B., Idrisova D.T., Tapalova A.S., Zhumadilova Zh.Sh., Appazov N.O., Shorabaev E.Zh. Izuchenie destrukcii nefti pri obrabotke organomineral'nymi udobrenijami neftezagrzaznennoj pochvy // *Izvestija NAN RK. Serija himicheskaja*. 2014. N 4(406). P. 39-43.
- [17] Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. 480 p.
- [18] Evans C.G.T., Herbert D., Tempest D.B. The continuous cultivation of microorganisms. 2. Construction of a chemostat // *Methods Microbiol.* 1970. Vol. 2. P. 277-327.
- [19] *Metody pochvennoj mikrobiologii i biohimii / Pod red. D. G. Zvjaginцева*. M.: MGU, 1991. 304 p.

Резюме

*Р. А. Нарманова, А. Е. Филонов, Н. О. Аппазов,
И. Ф. Пунтус, А. Т. Жүнісов, Л. И. Ахметов, Т. В. Фунтикова*

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ ОҢТҮСТІК ТОРҒАЙ ОЙЫСЫНДА
ОРНАЛАСҚАН МҰНАЙ-ГАЗ КЕНІШТЕРІ ТОПЫРАҚТАРЫ КҮЙІНЕ
ФИЗИКА-ХИМИЯЛЫҚ ЖӘНЕ МИКРОБИОЛОГИЯЛЫҚ ТАЛДАУ

Гравиметриялық және хроматографиялық талдау әдістерін қолдану арқылы топырақтың ластану деңгейі мен ластауыштың құрамы жөнінде мәлімет алынды. Микробиологиялық талдау көмегімен аборигенді микрофлоралар (10^6 – 10^7 кл/г топырақта) мен мұнай ыдыратушы аборигенді микроағзалардың (10^4 – 10^6 кл/г топырақта) мөлшері анықталды. Биоаугментация әдісін, яғни топыраққа тиімді мұнай ыдыратушы микроағзаларды ендіру ұтымды екендігі анықталды, ол өз кезегінде мұнай ластануларын қысқа уақытта тиімді тазалауды қамтамасыз етеді. Жүргізілген зерттеулер ыстық аридты климат жағдайында Қазақстан Республикасының Оңтүстік Торғай ойысындағы мұнаймен ластанған аймақтарын биоремедиациялаудың тиімді стратегиясын жасауға мүмкіндік береді.

Түйін сөздер: көмірсутектер, хроматография, мұнай деструкторлары, биоремедиация, биопрепараттар, мұнаймен ластанулар, бенз(а)пирен, микроорганизмдер.

Summary

*R. A. Narmanova, A. E. Filonov, N. O. Appazov,
I. F. Puntus, A. T. Zhunisov, L. I. Ahmetov, T. V. Funtikova*

PHYSICO-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL ANALYSIS
OF THE STATE OF SOILS OF OIL AND GAS DEPOSITS
OF THE SOUTH-TURGAYAN TROUGH OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

With the use of gravimetric and chromatographic methods, data were obtained on the level of soil contamination, the nature and composition of the contaminant. Microbiological analysis determined the number of aboriginal microflora (10^6 – 10^7 col/g soil), including aboriginal microorganisms-oil destructors (10^4 – 10^6 col/g soil). It was determined that it is expedient to use the bioaugmentation method, i.e. the introduction of effective microorganisms-oil destructors in the composition of biological products, which will ensure effective cleaning from oil pollution in the shortest possible time. It is shown that the conducted studies allow developing an optimal strategy for bioremediation of oil-polluted areas of the South Turgai trough of the Republic of Kazakhstan in conditions of a hot arid climate.

Key words: hydrocarbons, chromatography, oil destructors, bioremediation, biological preparations, oil pollution, benz(a)pyrene, microorganisms.