

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ МЕТОДИ ОЧИЩЕННЯ МОРСЬКИХ ВОД ВІД НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ

В. Р. Мазець, студент, victoriamazets@gmail.com

Науковий керівник – доцент Юлевич О. І.

Миколаївський національний аграрний університет

У статті розглядаються питання щодо проблем, які виникають під час забруднення акваторії нафтою. Наведена характеристика біотехнологічних методів рішення проблеми нафтового забруднення морських вод. Описані приклади використання органічних та органо-мінеральних сорбентів, що покращують процеси розкладання нафтових компонентів. Розглянуті біооб'єкти, що здатні до біорозкладання вуглеводнів нафти.

Ключові слова: екологічна проблема, поверхневі води, біотехнологія, очищення морських вод, нафтове забруднення, мікроорганізми, сорбенти

Постановка проблеми. Використання нафти в якості палива, а також переробка і використання нафтопродуктів для виробництва товарів повсякденної необхідності зробило сферу добування, очищення та переробки нафти основою більшості виробництв. Основними шляхами потрапляння нафти і нафтопродуктів у водне середовище при їх транспортуванні водним транспортом є: скиди у водне середовище промивних, баластних і лляльних вод з суден; скиди в портах і припортових акваторіях, включаючи втрати при завантаженні суден; катастрофи судів. За різними джерелами в Світовий океан щорічно потрапляє від 5 до 100 млн тонн нафти [1].

Тридцять років тому, 24 березня 1989 нафтовий танкер *Exxon Valdez* врізався у риф за три кілометри від Аляски. Зіткнення пошкодило танкер, унаслідок чого у воду вилилося 11 мільйонів галонів (близько 40 мільйонів літрів) нафти. У перші дні після трагедії вона простягалася вздовж 1,9 км берегової лінії. Відразу після аварії ніхто достеменно не знав, як впоратися з забрудненням такого масштабу. Спочатку очистити море намагалися за допомогою диспергентів – речовин, що перешкоджають осаду. Проте море було занадто спокійним і вони не змішувалися з нафтою. Позбутися нафти намагалися також за допомогою підпалу речовини та механічної очистки. Однак попри усі зусилля, за даними Національного управління океанічних і атмосферних досліджень США (NOAA), більш ніж 98 тисяч нафти просочилися у ґрунт вздовж берега. Унаслідок трагедії загинули 250 тисяч морських птахів, близько 3 тисяч видр, 300 чайок, 250 орлів, 22 китів та мільйони ікринок лосося. Наслідки трагедії простежуються і зараз. Так, Рік Стейнер, що був морським радником Університету Аляски на момент трагедії, у коментарі *National Geographic* зазначив, що повністю очистити океан від нафти неможливо, і наслідки від подібних катастроф можуть тривати протягом десятиліть. За його словами, навіть тридцять років потому популяція китів та морських птахів у регіоні не відновилася. Затримується також зріст популяції горбуші.

У дослідженні 2017 року, проведеному дослідником Жаклін Мішель, геохіміком, що спеціалізується на виливах нафти, йдеться про те, що така ситуація може тривати ще протягом десятків років.

Попри свої руйнівні наслідки, аварія *Exxon Valdez* стала далеко не єдиною, що мала згубний вплив на екологію. Насправді, у топі найгірших вона посідає лише 36 сходинку. Найперший масштабний вилів нафти відбувся за два роки до *Exxon Valdez*, у 1967 році. Тоді з танкера *Torrey Canyon* у море потрапило 36 мільйонів галонів нафти.

У 1979 року поблизу узбережжя Тобаго у Вест-Індії унаслідок зіткнення *Atlantic Empress* з іншим танкером у воду потрапило 287 тисяч тон сирової нафти. Для порівняння, *Valdez* втратив лише 37 тисяч тонн.

2000 рік позначився інцидентом на державному нафтопереробному заводі в Бразилії. Тоді з трубопроводу в затоку Гуанабара вилилося майже 350 тисяч галонів сирової нафти. Розлив зруйнував мангрові екосистеми і важливі місця розмноження риб, птахів і ракоподібних.

Ще одна руйнівна аварія трапилася 2010 року у Мексиканській затоці. Тоді унаслідок вибуху на нафтовому буровому майданчику *Deepwater Horizon* у затоку за три місяці – з квітня по липень – потрапило 680 тисяч тонн (приблизно 5 мільйонів барелів) нафти із зруйнованої свердловини.

Наразі, зазначає *Business Insider*, вдалося прибрати лише 25 % пролітої нафти, а 154 мільйонів галонів речовини досі перебувають у океані.

А у січні 2018 року унаслідок зіткнення з іншим судном іранський танкер *Sanchi* розлив понад 117 тисяч тонн надзвичайно легкозаймистої та токсичної сирової нафти [2].

Нафта та нафтопродукти являють собою суміш надзвичайно токсичних вуглеводнів, які можуть перебувати у різних міграційних формах. На сьогодні очистку поверхневих вод від нафти та вуглеводнів здійснюють, застосовуючи механічні, фізично-хімічні та біохімічні методи очищення, які мають ряд суттєвих недоліків: хімічне очищення передбачає використання хімічних реагентів, що підвищує токсичність води, флотаційний метод з застосуванням ПАР збільшує розміри емульгованих частинок, унаслідок чого відбувається додаткове забруднення води. Біологічне окислення можна ефективно використовувати за низьких концентрацій нафти у поверхневій воді, лише в певному інтервалі рН та температур. Беручи до уваги все вищесказане, є доцільним звернути увагу на мікробіологічні методи з використанням бактерій і штамів бактерій, вилучених з областей нафтового забруднення, а також звернути увагу на альтернативні види адсорбентів для очищення забруднених нафтою територій акваторії.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Проблема забруднення навколишнього середовища нафтою і нафтопродуктами в результаті людської діяльності, пов'язаної з використанням нафти і нафтопродуктів, безперечно є однією з найбільш значущих екологічних проблем сучасного суспільства як в Україні, так і в усьому світі [3]. Негативний вплив компонентів нафти і нафтопродуктів на навколишнє середовище широко відомий, а при недотриманні природоохоронного законодавства в галузі використання даних

видів паливно-енергетичних ресурсів він може привести до зміни хімічного і мікробіологічного складу ґрунтів, забруднення поверхневих і підземних вод, морських акваторій і атмосфери.

Проблемам забезпечення екологічної безпеки морського середовища присвячено значну кількість спеціальних досліджень, серед яких варто відзначити праці: М. Д. Балджи, Б. В. Буркинського, Т. Р. Короткого, Н. С. Лисенка, О. І. Пашенцова, В. Я. Тація, Ю. С. Шемшученка, В. К. Матвійчука, С. Б. Гавриш та інших видатних науковців.

Постановка завдання. Розглянути варіанти біотехнологічних рішень очищення морських вод від нафтового забруднення, які є альтернативою існуючих хімічних, механічних та фізико-хімічних методів.

Матеріали та методика. В основу роботи покладено аналіз та систематизація наукової інформації щодо ефективності застосування біодеструкторів нафтопродуктів різних таксономічних груп.

Результати досліджень. У наш час розроблені різні методи очищення і відновлення морських акваторій від розливів нафти, в тому числі механічні (збір нафти з поверхні води різними пристроями), фізико-хімічні (наприклад, контрольоване спалювання, застосування адсорбентів, диспергування і емульгування), а також біоремедіаційні методи.

До біологічних способів очищення поверхні морських вод відносять використання біопрепаратів на основі різних видів мікроорганізмів. Даний метод заснований на введенні в забруднений водний об'єкт активних мікроорганізмів-деструкторів, що дозволяє не тільки проводити ефективну очистку від нафтових забруднень, але і стимулювати відновлення природних процесів самоочищення екосистеми. Для біоремедіації водного середовища використовуються концентровані біологічні препарати, основу яких складають спеціально підібрані вуглеводокислюючі мікроорганізми, ферменти і біосурфактанти (поверхнево-активні речовини), здатні прискорювати процеси природного розкладання органічного забруднення за рахунок швидкого розщеплення органічних молекул, істотно полегшуючи тим самим засвоєння бактеріями забруднюючої речовини.

Біоремедіація вважається однією з найважливіших екологічно чистих і економічно ефективних технологій для морської екологічної очистки, яка призводить до повного розкладання складних нафтових вуглеводнів у процесі мікробного метаболізму на більш прості нетоксичні сполуки (наприклад, CO_2 і H_2O), які знову беруть участь у біогеохімічному циклі біогенних елементів у природі. У процесі біоремедіації важливе значення для біотрансформації забруднюючої речовини мають мікроорганізми-деструктори нафтових вуглеводнів.

Мікробіологічні способи очищення водного середовища від нафтового забруднення включають використання біопрепаратів на основі монокультур мікроорганізмів, мікробних спільнот (консорціуми і асоціації), а також генетично модифікованих штамів мікроорганізмів. У складі біопрепаратів можуть бути присутніми різні добавки-стимулятори (крохмаль, кукурудзяний екстракт, кормові дріжджі, глюкоза, ферменти, добрива) або іммобілізатора.

Для збільшення ефективності очищення нафтозабруднених вод одним з найбільш ефективних прийомів, що підвищують окислювальну активність мікробних клітин, є іммобілізація мікроорганізмів на поверхні носія або включення їх у гранули гелів (інкапсулювання). Найважливішою перевагою іммобілізованих клітин є збереження їх життєздатності та метаболічної активності протягом тривалого часу.

Для іммобілізації мікроорганізмів використовуються різні носії. Найбільш перспективними матеріалами, що застосовують в якості адсорбентів для прикріплення мікроорганізмів, є природна органічна сировина і відходи виробництва рослинного походження [4]

Одним з дієвих методів видалення нафтових забруднювачів можна вважати метод адсорбційної очистки з використанням адсорбентів різного типу. Перевагами методу є досить висока ефективність, різноманітність форм (гранули, волокна тощо), а також широкий спектр видів адсорбентів, що можуть забезпечити очищення води до будь-якого потрібного рівня. Органічні та органо-мінеральні сорбенти на сьогодні можна вважати найбільш перспективними. Найчастіше використовують деревну тріску і тирсу, модифікований торф, шерсть, макулатуру, відходи виробництва льону тощо. Основними перевагами таких сорбентів є екологічна чистота та безпечність, широка сировинна база, висока нафтоємність порівняно з невисокою вартістю. Так, січка з листя очерету має нафтопоглинання 6,1 г/г, пшенична солома – 4,1 г/г, лушпиння з гречки – 3,0-3,5 г/г, сухий мох – 3,5-5,8 г/г, тирса – 1,7 г/г, торф – 17,7 г/г, шерсть – 8,0-10,0 г/г [3].

Відомо понад сотні родів бактерій, дріжджів і міцеллярних грибів, що мають здатність засвоювати вуглеводні. Так, до біодеструкторів нафтопродуктів відносять представників різних таксономічних груп: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, мікобактерії, дріжджові міксоміцети і інші мікроорганізми. Багато дослідників припускають, що клітини споживають емульгований субстрат за допомогою поверхнево-активних речовин. Тому виявлення здатності до синтезу природних поверхнево-активних речовин (біосурфактантів, біоемульгаторів) у багатьох мікроорганізмів-деструкторів, має вирішальне значення для ефективності процесу біодеградації і обумовлює здатність бактерій засвоювати вуглеводні. Вуглеводні, що потрапили в мікробну клітину, піддаються подальшій деструкції під впливом ендoferментів (оксигеназ, дегідрогеназ і гідролаз), які здійснюють ароматичне і аліфатичне гідроксилування, окислювальне дезамінування, гідроліз і т.і. Мікробіологічні методи є енергонезалежними, ефективними та не викликають вторинного забруднення.

Були проведені дослідження, в ході яких виявлено деструктивну та метал-акумулюючу здатність бактерій роду *Pseudomonas*. Було встановлено здатність штамів *P. cepacia* ONU-327 і *P. fluorescens* ONU-328 до деструкції важкоокиснювальних ксенобіотиків – вуглеводнів нафти і «біологічно жорсткого» N-цетилпіридинію бромистого та виявлено синергетичну нафто- і ПАР-деструктивну здатність асоціації цих штамів в об'ємному співвідношенні 1:1.

Ступінь біодеструкції вуглеводнів нафти за дії використаних штамів протягом 10 діб експозиції досягав 62-73% та був максимальним (82%) за дії асоціації штамів. У присутності окремих штамів зі збільшенням терміну експозиції до 20 діб концентрація вуглеводнів нафти зменшувалася у 2,6-3,7 разів, а на тридцять добу – у 5 разів [5].

На основі таксономічних груп бактерій, які володіють властивістю до деградації вуглеводних нафти і нафтопродуктів створюються біопрепарати, які використовують на останній стадії ліквідації нафтових розливів. Бактерії роду *Rhabdococcus* займають особливе місце при розробці подібних біопрепаратів, так як мають значну кількість лінійних плазмід, сприяючих активації різноманітних генів катаболічних шляхів, родококки володіють «катаболічною універсальністю». Вони здатні руйнувати широкий ряд органічних зв'язків, в тому числі високостійких та біотоксичних.

Встановлено, що у бактеріальних клітин в іммобілізованому стані в складі біопрепаратів підвищується витривалість до несприятливих проявів навколишнього середовища, збільшується деструктивний потенціал. В зв'язку з цим великі перспективи має створення систем, що об'єднують сорбенти і мікроорганізми, які здатні окисляти вуглеводні нафти. В таких системах видалення нафти і нафтопродуктів з водного середовища відбувається одночасно шляхом адсорбції та деструкції. В результаті виключається необхідність відділення нафтопродуктів від сорбента, а також полегшується наступна утилізація відпрацьованих матеріалів.

Подібні системи на основі сорбентів, що являються матрицями для бактерій-нафтодеструкторів, можуть стати основою для розробки безвідходної технології ліквідації аварійних розливів нафти.

Однією з перешкод для використання мікроорганізмів з деструктивними по відношенню до нафти властивостями є солоність морської води. Та вченими з Єгипту та Австралії було виявлено, що два мікробних ізоляту із забрудненої нафтою води Червоного моря в Єгипті, позначені як *RS-Y1* і *RS-F3*, здатні розкладати сиру нафту Belayim mix (BX). Штами *RS-Y1* і *RS-F3* були віднесені до родів *Lipomyces tetra sporus* і *Paecilomyces variotii* на підставі їх морфологічних і фізіологічних характеристик. *L. tetra sporus* (44,5%) був більш ефективним, ніж штам *P. variotii* (32,9%), у зниженні вмісту нерозчинних складних сумішей. Обидва ізоляту показали сильне зростання в широкому діапазоні солоності (5-45 г/л NaCl) [6].

Вченими з Китаю, з ґрунту, забрудненого нафтою, виділена розкладаюча вуглеводні бактерія *BL-27*, яка була змішана з поверхнево активними речовинами для поліпшення біорозкладання. Штам *BL-27* має велику адаптивність до розпаду в широкому діапазоні температур (25-50°C), рН (4,0-10,0) і солоності (0-50 г/л NaCl). За оптимальних умов (45°C, рН 7,0, 1% NaCl) протягом 5 днів штам здатний розкласти 65% сирової нафти. Штам *BL-27* має слабку гідрофобність клітинної поверхні. Гідрофобність клітинної поверхні знижувалася ще більше за додавання поверхнево-активних речовин – диспергаторів SDS (50-100 мг/л) і Tween 80 (200-500 мг/л), при цьому значно

збільшувалась (до 75-80%) здатність штаму до біорозкладання вуглеводнів нафти [7].

Висновки і перспективи подальших досліджень. У наш час у зв'язку зі збільшеним попитом на нафту і нафтопродукти, неможливо уникнути ситуацій, при яких неминуче може статися забруднення навколишнього середовища, в тому числі морських акваторій.

Механічні і фізико-хімічні методи боротьби з даними забрудненнями здатні видалити нафту з водної поверхні, однак у боротьбі з емульгованою нафтою і тонкою нафтовою плівкою вони практично безсилі.

Біоремедіаційний спосіб очищення водної екосистеми допомагає усунути недоліки даних методів і може застосовуватися спільно з ними для більшої ефективності очищення.

До переваг біоремедіації відносяться екологічна і гігієнічна безпека щодо навколишнього середовища, можливість цілеспрямованого застосування, висока швидкість деструкції мікроорганізмами забруднювачів на нешкідливі для навколишнього середовища продукти метаболізму бактерій.

Основною перевагою даного методу є використання природних вуглеводокислюючих мікроорганізмів, які не є чужорідним агентом для водної екосистеми, що відбувається при використанні різних фізико-хімічних способів очищення (адсорбенти, диспергент). До того ж, мікроорганізми, що використовуються для ліквідації нафтових розливів у морських водах, є їжею для планктону та інших морських організмів, забезпечуючи тим самим певні трофічні зв'язки.

Застосування для очищення водних середовищ наземних форм мікроорганізмів призводить до їх загибелі після розкладання всього нафтового забруднення, в результаті не виникає необхідності в додатковому очищенні після закінчення процесу мікробної деградації.

Біоремедіація є однією з найбільш економічно ефективних технологій, оскільки вона ґрунтується на природних фізичних, хімічних і біологічних процесах у системі морська вода-мікроорганізми-забруднювачі, а забруднення нафтою і нафтопродуктами видаляються в процесі метаболізму мікроорганізмів.

Список використаних джерел.

1. Владимиров В. А. Разливы нефти: причины, масштабы, последствия. *Стратегия гражданской защиты: проблемы и исследования*. 2014. С. 221-224.
2. Вилів нафти 30-річної давності продовжує знищувати світовий океан. Режим доступу : <https://tsn.ua/svit/viliv-nafti-30-richnoyi-davnosti-prodovzhuye-znischuvati-svitoviy-ocean-rozpovidayemo-yak-na-zhittya-planeti-vplinula-katastrofa-exxon-valdez-1317855.html>
3. Бойченко С. В., Черняк Л. М., Радомська М. М. Проблема очищення природних водойм, забруднених стічними водами об'єктів сфери нафтопродуктозабезпечення. Київ. 2015. С. 354-356.

4. Долгополова В. Л., Патрушева О. В. Способы очистки морских акваторий от нефтяных загрязнений. Молодой ученый. 2016. №29. С. 229-234.
5. Гошркова О. Г., Гудзенко Т. В., Волювач О. В. Деструктивна та метал-акумулююча здатність бактерій роду *Pseudomonas*. Тернопіль: ТНПУ ім. В. Гнатюка, 2018. 50 с.
6. Yousseria M.H. Shetaiaa, Wafaa A.A. El khalik, Tarek M. Mohamed, Potential biodegradation of crude petroleum oil by newly isolated halotolerant microbial strains from polluted Red Sea area. Marine Pollution Bulletin Volume 111. Issues 1–2. 15 October 2016. Pages 435-442.
7. Dan Wang, Jiahui Lin, Junzhang Lin, Weidong Wang, Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons by *Bacillus subtilis* BL-27, a Strain with Weak Hydrophobicity. Molecules. 2019. 24. 3021. Page 1.

***Mazet W. R.* BIOTECHNOLOGICAL METHODS FOR PURIFICATION OF SEA WATER FROM OIL POLLUTION**

The article deals with the urgency of the issue by oil pollution of sea waters. The characteristic of biotechnological methods of the solution of the problem of oil pollution of sea waters is given. Examples of the use of organic and organo-mineral sorbents are described. The bio-objects with the destructive properties of the petroleum hydrocarbons are considered.

Keywords: environmental problem; surface waters; biotechnology; seawater treatment; from oil pollution; microorganisms; sorbents.