

УДК 504.054:606:665.7.002.8(045)

## МОЖЛИВІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ СИЛОВИХ ПОЛІВ ДЛЯ ІНТЕНСИФІКАЦІЇ БІОДЕГРАДАЦІЇ НАФТОПРОДУКТІВ

**О. Л. МАТВЄЄВА, О. Р. АЛІЄВА**

Національний авіаційний університет, м. Київ

*Значне забруднення ґрунтів та водойм нафтою та нафтопродуктами зумовлює необхідність розробки нових методів та пошуку шляхів інтенсифікації існуючих для очищення довкілля. Розглянуті підходи до інтенсифікації біоремедіації нафтового забруднення за рахунок застосування силових полів, зокрема електричного поля та ультразвуку. Показано, що прискорення та підвищення ступеню біодеградації відбувається, в основному, за рахунок посилення масопереносу в середовищі, стимулювання ферментативної активності мікроорганізмів, прискорення росту клітин, а також впливу на конфігурацію і реакційну здатність молекул вуглеводнів.*

**Ключові слова:** біодеградація, нафтопродукти, мікроорганізми-нафтодеструктори, ультразвук, електричне поле.

Нафтовидобувна і нафтопереробні галузі промисловості загострюють проблеми, пов'язані із забрудненням навколишнього середовища. Забруднення ґрунтів та водойм нафтою та нафтопродуктами спричиняє як деградацію земель, так і небезпеку проникнення полютантів у живильні ланцюги, однією з ланок яких є людина. Це зумовлює гостру необхідність пошуку ефективних та екологічно безпечних методів очищення довкілля від забруднень нафтою. Доведено [1, 3, 4], що процес біологічного очищення навколишнього середовища є достатньо ефективним інструментом детоксикації та видалення забруднюючих речовин з навколишнього середовища за рахунок застосування метаболічних

можливостей мікроорганізмів. Крім того, технологія біологічного очищення, як вважається, є неінвазивною і відносно рентабельною [2]. З тим, необхідність контролю великої кількості зовнішніх факторів і відносна тривалість процесу очищення нафтового забруднення шляхом біодеградації зумовлюють необхідність пошуку шляхів інтенсифікації та прискорення процесу біологічного розкладання нафтопродуктів мікроорганізмами. У статті розглянуті підходи до підвищення ступеню та швидкості протікання біодеградації за рахунок застосування силових впливів, а саме електричного поля та ультразвуку, які за певних умов [15, 18, 20] можуть сприяти інтенсифікації біоремедіації нафтового забруднення довкілля.

Електричне поле – одна зі складових електромагнітного поля [34], кількісними характеристиками якої є вектор напруженості електричного поля та вектор електричної індукції. Згідно аналізу біологічних ефектів ультразвуку та електричного поля, стимулюючий ефект відносно протікання біологічної реакції може виникати в результаті наступних властивостей впливу даних силових впливів [19, 20]:

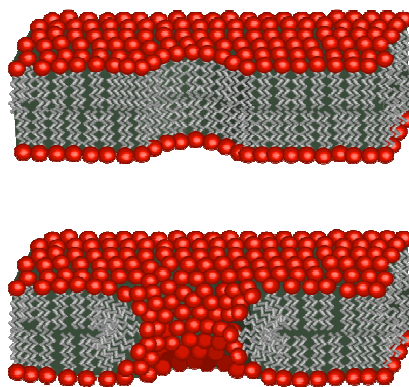
1. Посилення масообміну і перемішування речовин у реакційних системах.
2. Стимулювання ферментативної активності мікроорганізмів.
3. Прискорення клітинного росту.
4. Впливу на конфігурацію і реакційну здатність молекул вуглеводнів.

#### **Посилення масообміну**

Дія ультразвуку низької інтенсивності може прискорити транспортування речовин і збільшити проникність мембрани мікробної клітини, збільшуючи поглинання сторонніх речовин і вивільнення внутрішньоклітинних продуктів у культуральну рідину. Це явище можна охарактеризувати як ультразвукову порацію клітин мікроорганізмів-нафтодеструкторів [23]. Нафтопродукти у своїй більшості представляють собою молекули складної вуглецевої структури, які характеризуються гідрофобними якостями, що ускладнює їх проникність до

клітини мікроорганізму, де вони мають піддаватись розкладанню. Виходячи з цього, посилення масопереносу набуває особливого значення, адже полегшивши перенесення молекул вуглеводнів нафти із середовища до мікробної клітини, потенційно можна досягти підвищення інтенсивності процесу біодеградації в цілому. З тим, не варто втрачати з поля зору той факт, що нафтопродукти є речовинами токсичними, і стрімке підвищення їх концентрації всередині клітини може пригнічувати життєдіяльність [22] або навіть призводити до загибелі мікроорганізмів-нафтодеструкторів. Так, зокрема, тривалий вплив низькочастотного ультразвукового впливу з інтенсивністю більше, ніж  $10 \text{ Вт/см}^2$  [11] призводить до смерті клітин, таким чином, життєздатність біологічного агента біодеградації повинна бути врахована при використанні цього підходу.

Схожі явища відбуваються під час дії електричного поля на середовище протікання біодеградації. При застосуванні електричного поля в клітинній стінці утворюються пори (рис. 1) [24], які дозволяють полегшити потрапляння молекул вуглеводнів всередину клітини мікроорганізма.



**Рис. 1. Теоретичне розташування ліпідів у гідрофобній порі (вгорі) і гідрофільній порі (внизу)**

На додаток до зазначеного явища, під час дії ультразвуку та електричного поля спостерігається інтенсифікація перемішування речовин у середовищі [18], що також сприяє прискоренню масообміну. За допомогою обробки ультразвуком зазвичай з частотою 15–50 кГц [31, 35] досягається прискорення в рідких і

твердих середовищах масо- і теплообміну, зокрема, ультразвук широко використовується для інтенсифікації процесів диспергування вуглеводнів у водному середовищі, що в свою чергу призводить для збільшення площі розподілу фаз вода/вуглеводні, і таким чином підвищує вірогідність контакту мікроорганізмів-нафтодеструкторів з речовиною.

Схожий ефект спостерігається від дії електричного поля, яке більшою мірою застосовується для управління процесом біоремедіації у ґрунтах. Використання електричного поля зумовлює перенесення забруднюючих речовин у ґрунті і називається електрокінетичним методом, який може бути дуже ефективним у певних умовах [10, 27], тому що він викликає електроосмос, електрофорез і електроліз в ґрунті, які тісно пов'язані з міграцією забруднюючих речовин. Тим не менш, це технологічне застосування не таке ефективне для ґрунтів, забруднених гідрофобними сполуками. Рухливість забруднення значно знижується через нерозчинність гідрофобних сполук у воді і їх сильну адгезію на частинках ґрунту. Тому, в таких випадках, на думку авторів [17, 18] пріоритетним є безпосередній вплив на мікроорганізми та їх міграцію в електричному полі, а не на перенесення забруднюючої речовини.

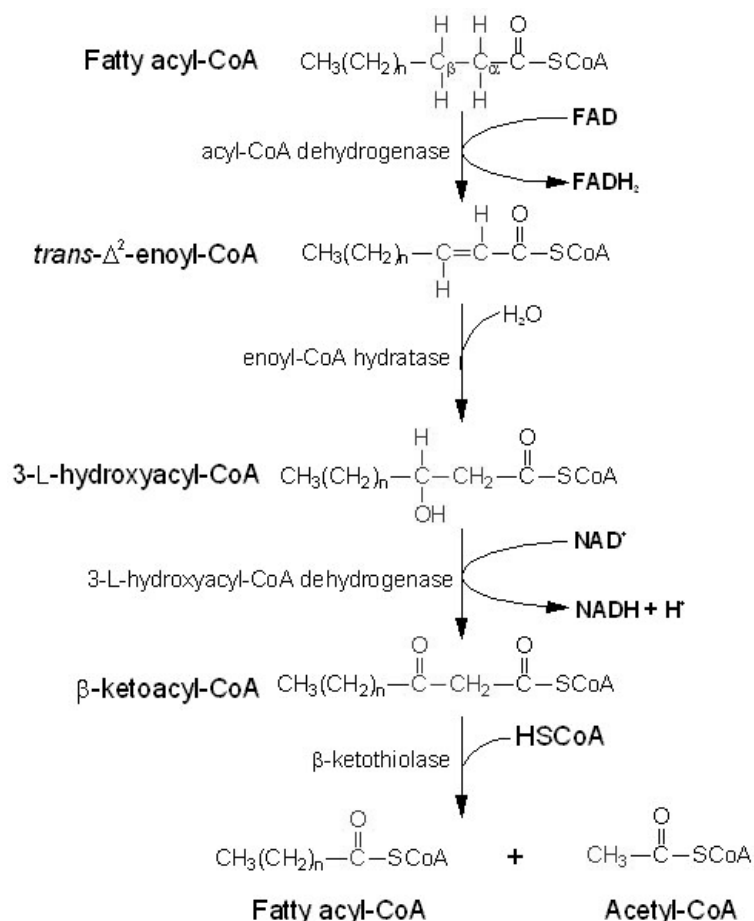
Слід зазначити, що через специфічну структуру формування стінки бактеріальної клітини та численні хімічні групи, що розташовані поза клітиною, на її поверхні, виникає негативний заряд [6, 7], який і зумовлює бактеріальний рух під впливом електричного поля. Однак, бактеріальна поведінка в електричному полі буде сильно залежати від напруженості поля. Коли напруженість електричного поля становить  $0,1-0,2 \text{ mA/cm}^2$ , рН на аноді дорівнює 2–3 і 8–12 на катоді, що може впливати на життєздатність деяких мікроорганізмів [13]. В цілому, слабка дія електричного поля має великий вплив на швидкість і напрямок бактеріальної міграції в пробах ґрунту і біодеградації забруднення. Застосування електричного поля призводить до міграції ґрунтових бактерій у потрібному напрямку і, отже, може стимулювати біодеградацію забруднення в окремих зонах.

## Стимулювання ферментативної активності

Вплив ультразвуку низької інтенсивності може стимулювати ферментативну активність мікроорганізмів [5]. Наявні на сьогодні наукові дані підтверджують цей факт, але інформації щодо відповідного впливу на ензимні системи саме мікроорганізмів-нафтодеструкторів недостатньо.

Проведені дослідження [5] порівняли активність деяких ферментів глюкозооксидази в присутності і за відсутності впливу ультразвуку. Результати показали, що за низької концентрації субстрату ультразвук не впливає істотно на дію ферментів. Однак, при більш високій концентрації субстрату стає помітне збільшення активності інвертази до сахарози. Таким чином, обробка ультразвуком зумовлює ефективне перемішування розчинів, за рахунок якого досягається вища гомогенність реакційної суміші, що сприяє легшому транспорту речовин як з, так і до активного центру ферменту. За рахунок цього явища зменшується інгібування синтезу вторинних метаболітів, а отже підвищується ефективність дії ферменту. Також, деякі дослідження [15] показали, що активність інулінази можна підвищити на 60 % у присутності ультразвуку напруженістю 20 Вт. Інше дослідження [28] виявило, що більш значне збільшення активності ферментів у присутності ультразвуку спостерігається для іммобілізованих ензимів, ніж для вільних. Крім того, існує вірогідність того, що ультразвукова обробка викликає різке збільшення активності внутрішньоклітинних ферментів як наслідок активації захисних механізмів [26] мікроорганізмів у відповідь на фізичний вплив ультразвуку.

Механізми розкладання вуглеводнів різних класів істотно відрізняються в частині залучених до цього метаболічного процесу ферментів. Наприклад, біодеградація прямих ланцюгів алканів відбувається через  $\beta$ -окиснення. Під час цього процесу кисень зв'язується з кінцем вуглеводневого ланцюга, що веде до утворення карбоксильної групи (рис. 2).



**Рис. 2.  $\beta$ -окиснення вуглеводнів [17]**

Як видно з рисунку, до даного метаболічного процесу залучені ряд ферментів, таких як дегідрогіназа, гідратаза, тощо, що свідчить про те, що ультразвук може змінювати їх активність, тим самим впливаючи на процес біодеградації аліфатичних вуглеводнів в цілому.

В свою чергу, наприклад, природні ізоалкани насиченої ізопреноїдної структури окиснюються через цитронеллольний шлях (рис. 3), до якого залучено ще більше ферментів, зокрема лігаза, карбоксилаза, ацетатліаза та інші.

### **Підвищення інтенсивності накопичення біомаси**

Дослідженнями [19, 21, 25] показано, що ультразвук з належними частотою, інтенсивністю і періодом опромінення призводить до збільшення швидкості росту клітин у порівнянні з ростом без опромінення. Враховуючи той факт, що швидкість і ступінь біодеградації напряму залежать від наявності і кількості мікроорганізмів-нафтодеструкторів, прискорення їх швидкості росту і

накопичення біомаси позитивно впливатимуть на процес біоремедіації середовища від нафтопродуктів.

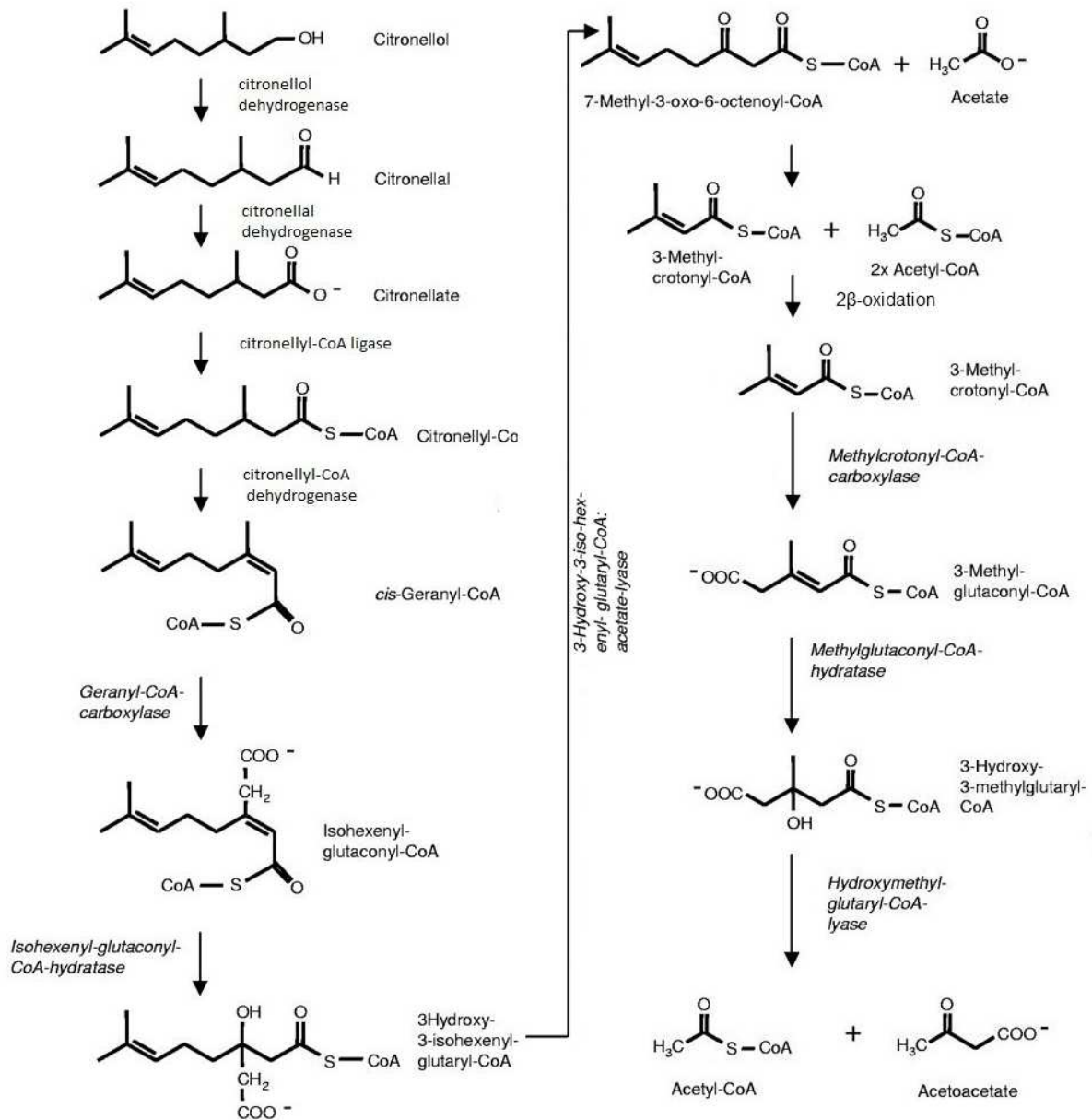


Рис. 3. Цитронеллольний шлях деградації вуглеводнів [8]

Ультразвук низької інтенсивності може сприяти зростанню клітин шляхом скорочення тривалості лаг-фази, збільшення кількості клітин і їх сухої ваги [12]. В цілому, дані твердження справджуються і для впливу електричного поля, адже у підсумку підвищення швидкості росту клітин за впливу ультразвуку або електричного поля відбувається за рахунок факторів, описаних вище, а саме

прискорення масообміну речовин у середовищі та стимулювання ферментативної активності мікроорганізмів.

### **Вплив на конфігурацію і реакційну здатність молекул вуглеводнів**

Ультразвук також ефективний для очищення ґрунту від нафтопродуктів [29] за рахунок впливу безпосередньо на вуглеводні нафти. Починаючи з критичного значення звукового тиску акустичних хвиль у рідині виникає кавітація. При схлопуванні кавітаційних порожнин утворюються мікрострумені з лінійними швидкостями 300–800 м/с, які зривають з поверхні твердих частинок нафтові компоненти, а також руйнують нафтову плівку на розділі фаз у водному середовищі. При кавітаційних розривах рідини відбувається іонізація, утворення вільних радикалів [9] і активація молекул вуглеводнів, що стимулює окиснення і полімеризацію вуглеводневих молекул і тим самим підвищує їх реакційну здатність. Під дією електричного поля також відбувається активація молекул вуглеводнів нафти [30, 32] в результаті переміщення густини електронної хмари в молекулі, тобто за рахунок її полімеризації.

## **ВИСНОВКИ**

Застосування силових полів зокрема ультразвуку і електричного поля до середовища протікання біодеградації може призвести до значного підвищення інтенсивності та ступеню розкладання вуглеводнів нафти мікроорганізмами-нафтодеструкторами. Дана галузь біотехнології не є достатньо дослідженою. До сьогодні не визначено, які із зазначених властивостей впливу силових полів більшою мірою зумовлюють зміни у процесі протікання біодеградації нафтопродуктів. Також не має чітких даних щодо рекомендованих параметрів силових полів, які можуть бути застосовані під час очищення від конкретних забруднюючих речовин визначеними штамами мікроорганізмів. Окремий інтерес становить дослідження синергетичних ефектів від застосування силових полів до середовища біодеградації, для цього доцільним є визначення змін ступеню і швидкості деструкції вуглеводнів нафти мікроорганізмами при опроміненні



силовими полями на різних етапах росту культур мікроорганізмів, а також при опроміненні лише середовища без піддавання біологічного агента впливу силових полів.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Petroleum pollutant degradation by surface water microorganisms / [Antić M. P., Jovancićević B. S., Ilić M. et al.] // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. – 2006. – Vol. 13, No. 5. – P. 320–327.
2. April T. M. Hydrocarbondegrading filamentous fungi isolated from flare pit soils in northern and western Canada / April T. M., Foght J. M., Currah R. S. // Canadian Journal of Microbiology. – 2000. – Vol. 46, No. 1. – P. 38–49.
3. Atlas R. M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective / R. M. Atlas // Microbiological Reviews. – 1981. – Vol. 45, No. 1. – P. 180–209.
4. Atlas R. M. Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation / R. M. Atlas, R. Bartha // Advances in Microbial Ecology. – 1992. – Vol. 12. – P. 287–338.
5. Barton S. The effects of ultrasound on the activities of some glucosidase enzymes of industrial importance / Barton S., Bullock C., Weir D. // Enzyme Microb. Technol.. – 1996. – Vol.18, No. 3. – P. 190–194.
6. Bayer E. M. The electrophoretic mobility of gram-negative and gram-positive bacteria: an electrokinetic analysis / E. M. Bayer, J. L. Sloyer // J. Gen. Microbiol. – 2000. – I. 136. – P. 876–881.
7. Berg H. C. Mobile behavior of bacteria / H. C. Berg // Physics Today. – 2000. – I. 53. – P. 24.
8. Binger D. Citronellol Pathway Map / D. Binger, M. Turnbull // Biocatalysis/Biodegradation Database. – 2011. – Access mode. : [http://eawag-bbd.ethz.ch/cit/cit\\_map.html](http://eawag-bbd.ethz.ch/cit/cit_map.html).
9. Bremner D. Historical introduction to ultrasound / D. Bremner // Advances in Sono-Chemistry. – 1990. – Vol. 4. – P. 1–37.

10. Chilingar G. V. Electrobioremediation of Soils Contaminated with Hydrocarbons and Metals: Progress Report / G. V. Chilingar, W. W. Loo // *Energy Sources*. – 1997. – I. 19. – P. 129.

11. Cochran S. A. Sonoluminescence as an indicator of cell membrane disruption by acoustic cavitation / S. A. Cochran, M. R. Prausnitz // *Ultrasound Med. Biol.* – 2001. – I. 27. – P. 841–850.

12. Study on the acceleration effect of ultrasound on the hydrolyzation of starch with glucoamylase / [D. Gao, M. X. Chen, H. Liang et al.] // *Journal of South China University of Technology (Natural Science)*. – 1994. – Vol. 22, No. 1. – P. 70–74.

13. In-situ bioelectrokinetic remediation of contaminated soils containing hazardous mixed wastes / [Marks R. E., Acar Y. B., Gale R. J., Ozsu-Acar E.]; ed. by D.L. Wise, D.J. Trantolo. – NY: Basel Press, 2000. – 648 p.

14. Effect of ultrasound on the catalysis of inulinase / [Y. Lin, D. Gao W., G. J. Li et al.] // *Journal of South China University of Technology (Natural Science)*. – 1997. – Vol. 25, No. 9. – P. 142–144.

15. Enhancement of organic pollutant biodegradation by ultrasound irradiation in a biological activated carbon membrane reactor / [H. Liu, He Y., X. Quan et al.] // *Process Biochemistry*. – 2005. – I. 40. – P. 3002–3007.

16. Liu Z. Electrokinetic Movement of Escherichia coli in Capillaries / Liu Z., Chen W., Papadopoulos K. D. // *Environ. Microbiol.* – 1999. – Vol. 1. – P. 99.

17. Nelson D. L. Principles of Biochemistry / Nelson D. L, Cox M., Lehninger M. – [4th ed.]. – NY: W. H. Freeman and Company, 2005. – 1100 p.

18. Olszanowski A. The Use of an Electric Field to Enhance Bacterial Movement and Hydrocarbon Biodegradation in Soils / A. Olszanowski, K. Piechowiak // *Polish J. Environ. Stud.* – 2006. – Vol. 15, No. 2. – P. 303–309.

19. Pitt W. G. Ultrasound increases the rate of bacterial cell growth / W. G. Pitt, S. A. Ross // *Biotechnol Prog.* – 2003. – 19(3). – P. 1038–1044.

20. Ultrasound stimulation of microorganisms for enhanced biodegradation / [Schlafer O., Onyeche T., Bormann H. et al.] // *Ultrasonics*. – 2002. – I. 40. – P. 25–29.

21. Application of low intensity ultrasound to biotechnology / [Shi L. C., Wang B. C., Yang Y. H., Dai C. Y.] // *Journal of Chongqing University*. – 2002. – Vol. 25, No. 10. – P. 139–142.

22. Sikkema J. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons / Sikkema J., de Bont J. A., Poolman B. // *Microbiol Rev. Jun.* – 1995. – Vol. 59(2). – P. 201–222.

23. Ultrasound-mediated DNA transfer for bacteria / [Song Y., Garaventa G., Bottero S. et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2007. – Vol. 35, No. 19. – P. 1073–1080.

24. Sugar I. Stochastic model for electric field-induced membrane pores electroporation / I. P. Sugar, E. Neumann // *Biophysical Chemistry*. – 1984. – Vol. 19(3). – P. 211–225.

25. Wang B. C. Carrot cell growth response in a stimulated ultrasonic environment / Wang B. C., Yoshikoshi A., Sakanishi A. // *Colloids and Surface. Biointerfaces*. – 1998. – Vol. 12. – P. 89–95.

26. Wu J. Y. Ultrasound-induced stress responses of *Panax ginseng* cells: enzymatic browning and phenolics production / J. Y. Wu, L. D. Lin // *Biotechnol. Prog.* – 2002. – Vol. 18. – P. 862–866.

27. Yeung A. T. Fundamental Formulation of Electrokinetic Extraction of Contaminants from Soil / A. T. Yeung, S. Datla // *Can. Geotech. J.* – 1995. – I. 32. – P. 569.

28. Enhancement of Lipase-catalysed esterification in organic solvent by ultrasonic irradiation / [M. H. Zong, Du W., H. Q. Li et al.] // *Journal of South China University of Technology (Natural Science)*. – 2000. – Vol. 28, No. 3. – P. 101–104.

29. Аспекты выбора технологий обезвреживания и утилизации опасных отходов / [Дикинис А. В., Илларионов А. В., Шилов Д. В. и др.] // *Экология и промышленность России*. – 2010. – Вып. 6. – С. 52–55.

30. Эйрінг Г. Основы химической кинетики / Эйрінг Г., Лин С.Г., Лин С.М. – М.: Мир, 1983. – 528 с.
31. Кардашев Г. А. Физические методы интенсификации процессов химической технологии / Г. А. Кардашев. – М.: Химия, 1990. – 208 с.
32. Ковалишин Б. М. Підвищення енергоефективності паливних установок через активацію молекул реагентів реакції горіння / Б. М. Ковалишин // Наукові вісті НТУУ “КПІ”. – 2011. – № 1. – С. 136–139.
33. Ткачук Н. Г. Интенсификация роста и ферментативной активности микроорганизмов ила для очистных сооружений электрическим током и ультразвуком: дис. ... канд. техн. наук : 05.18.11 / Ткачук Николай Григорьевич. – К., 1983. – 157 с.
34. Трофимова Т. И. Курс физики : [учеб. пособие для вузов] / Т. И. Трофимова. – [2-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Высш. шк., 1990. – 478 с.
35. Хорбенко И. Г. Ультразвуковая обработка материалов / Хорбенко И. Г., Абрамов О. В., Швекла М. П. ; под ред. О. В. Абрамова. – М.: Машиностроение, 1984. – 280 с.

## **ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ СИЛОВЫХ ПОЛЕЙ ДЛЯ ИНТЕНСИФИКАЦИИ БИОДЕГРАДАЦИИ НЕФТЕПРОДУКТОВ**

*Е. Л. МАТВЕЕВА, О. Р. АЛИЕВА*

*Национальный авиационный университет, г. Киев*

*Значительное загрязнение почв и водоемов нефтью и нефтепродуктами вызывает необходимость разработки новых и поиска путей интенсификации существующих методов очистки окружающей среды. Рассмотрены подходы к интенсификации биоремедиации нефтяного загрязнения за счет применения силовых полей, в частности электрического поля и ультразвука. Указанное повышение степени биodeградации происходит в основном за счет усиления*

*массопереноса в среде, стимулирования ферментативной активности микроорганизмов, ускорения клеточного роста, а также влияния на конфигурацию и реакционную способность молекул углеводов.*

**Ключевые слова:** *биодegradация, нефтепродукты, микроорганизмы-нефтедеструкторы, ультразвук, электрическое поле.*

## ***POSSIBILITIES OF FORCE FIELDS APPLICATION FOR OIL PRODUCTS' BIODEGRADATION ENHANCEMENT***

*O. L. MATVYEYeva, O. R. ALIYEVA*

*National Aviation University, Kyiv*

*Significant contamination of soil and water by oil industry necessitates the development of new and finding ways to intensify the existing methods of cleaning up the environment. Approaches to intensify bioremediation of oil pollution through the use of force fields, including electric field and ultrasound are considered. Accelerating and increased rate of the biodegradation occur mainly by increasing the mass transfer in the environment, stimulating enzymatic activity of microorganisms, acceleration of cell growth and impact on the configuration and reactivity of hydrocarbons molecules.*

**Keywords:** *biodegradation, petroleum products, oil-destructive microorganisms, ultrasound, electric field.*