

УДК 622.276:504.064:577.12(571.1)

**ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССОВ
БИОЛОГИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ
УГЛЕВОДОРОДОВ, ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ПОЧВЫ
В РЕГИОНЕ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ**Ю.В. Бочкарева¹, С.О. Галанова¹, Л.И. Сваровская², Р.Р.
Ахмеджанов¹¹ Томский политехнический университет
² Институт химии нефти СО РАН, г. Томск
E-mail: arr@tpu.ru**Бочкарева Юлия Викторовна**, магистрант кафедры экологии и безопасности жизнедеятельности Института неразрушающего контроля ТПУ.
E-mail: arr@tpu.ru

Область научных интересов: экологический мониторинг окружающей среды, охрана окружающей среды, экотоксикология.

Галанова Светлана Олеговна, магистрант кафедры экологии и безопасности жизнедеятельности Института неразрушающего контроля ТПУ.
E-mail: arr@tpu.ru

Область научных интересов: экологический мониторинг окружающей среды, охрана окружающей среды, экотоксикология.

Ахмеджанов Рафик Равильевич, д-р биол. наук, профессор кафедры экологии и безопасности жизнедеятельности Института неразрушающего контроля ТПУ.
E-mail: arr@tpu.ru

Область научных интересов: промышленная токсикология, экологический мониторинг окружающей среды.

Сваровская Лидия Ивановна, канд. биол. наук, сотрудник лаборатории коллоидной химии нефти ИХН СО РАН, г. Томск.
E-mail: arr@tpu.ru

Область научных интересов: микробиологическое воздействие на углеводороды нефти

Одной из серьезных проблем при добыче и транспортировке нефти является нефтяное загрязнение почвы. Нефть и нефтепродукты нарушают нативное состояние почвенных покровов и разрушают структуру почвенных биоценозов, вызывают изменение видового разнообразия экосистем. Устранение нефтяных загрязнений почв позволяет значительно улучшить санитарное состояние не только территорий, непосредственно прилегающих к технологическим объектам, но и окружающей среды – воздуха и воды. Объектом исследования явились процессы биодegradации углеводородов нефти в почве. Проведено экспериментальное исследование возможности повышения интенсивности процессов биологического окисления углеводородов нефти, загрязняющих почвы. Исследования были проведены с использованием общепринятых экспериментальных моделей нефтяного загрязнения почв и методов их исследования. Установлено, что в условиях эксперимента внесение стимулирующих подкормок приводит к существенному росту бактериальной почвенной микрофлоры и увеличению ее ферментативной углеводородоксилирующей активности по сравнению с контрольными образцами почвы без внесения подкормок.

Ключевые слова:

Нефть, нефтепродукты, углеводороды, почва, биодegradация, очистка, микроорганизмы, бактерии, ферменты, анализ.

Нефтяное загрязнение почвы – одна из серьезных проблем при добыче и транспортировке нефти. Нефть и нефтепродукты нарушают нативное состояние почвенных покровов и разрушают структуру почвенных биоценозов. Устранение загрязнений почв позволяет значительно улучшить санитарное состояние как территорий, непосредственно прилегающих к технологическим объектам, так и окружающей среды – воздуха и воды [1–3].

В настоящее время все большее применение находят технологии рекультивации нефтезагрязненных почв, разработанные с применением углеводородоксилирующих микроорганизмов:

– стимуляция естественной нефтеоксилирующей микрофлоры путем создания оптимальных условий для ее развития (внесение азотных, фосфорных удобрений, биоактивных добавок, аэрация и т. д.);

– введение в загрязненную экосистему биопрепаратов, содержащих активную углеводородоксилирующую микрофлору.

В представленной работе исследована возможность ускорения процессов биодegradации нефтепродуктов в почве путем внесения подкормок, стимулирующих естественную микрофлору, увеличивающих численность и активность бактерий – деструкторов нефти.

Исследования были проведены с использованием общепринятых экспериментальных моделей нефтяного загрязнения почв и методов их исследования [4–8].

При моделировании экспериментов фактический уровень нефтяного загрязнения почвы составил 8,42 и 5,7 %. При загрязнении 8,42 % процесс биодеструкции проводили в течение 30 и 60 суток без применения питательных субстратов. Увеличение времени контакта микроорганизмов с загрязняющей нефтью положительно влияет на процессы биодеструкции. Через 30 суток биодegradации остаточное содержание нефти в почве понизилось незначительно и составило 7,3 %, через 60 суток – 3,8 %. Уровень загрязнения снизился через 30 суток на 13,3 %, через 60 суток – на 55 %.

При проведении следующего эксперимента уровень загрязнения составил 5,7 %, деструкция – 30 суток. Опыт проводили в двух вариантах: с внесением питательного субстрата и без него. На 30-е сутки биодegradации уровень загрязнения почвы нефтью в опыте без подкормки понизился до 3,76 %, с внесением подкормки – до 3,17 %, концентрация загрязнения почвы понизилось на 34 и 44,4 % соответственно.

Для поддержания роста и развития микроорганизмов в условиях высокого загрязнения нефтью в образцы почвы вносили стимулирующую минеральную подкормку: 5%-й раствор композиции ПАВ, содержащей азотистые компоненты в концентрации 4,3 %, фосфаты (K_2HPO_4) – 0,2 %, соли магния ($MgSO_4$) – 0,1 % и 1 мл/л раствора микроэлементов по Хогланду.

В процессе биодеструкции исследовали динамику численности микроорганизмов в образцах почвы. При загрязнении почвы 8,42 % максимальное увеличение численности в опытных емкостях с нефтезагрязненной почвой от 0,023 до 7 млн клеток/г отмечено на 11-е сутки культивирования. В контрольной емкости с чистой почвой максимальная численность микроорганизмов не превышала 4 млн клеток/г. Увеличение численности нефтезагрязненной почвы объясняется ростом углеводородокисляющей группы микроорганизмов, утилизирующей нефть в качестве источника энергии и питания (табл. 1, 2).

Таблица 1. Динамика численности микроорганизмов в почве, загрязненной нефтью на 8,42 %

Сутки	Численность микроорганизмов, тыс. клет/г	
	чистая почва (контроль)	загрязненная почва (опыт)
1	2,1	2,3
7	16,3	23,7
9	20,4	64,0
11	440,0	408,0
14	2000,0	5120,0
17	4000,0	7000,0
25	2700,0	3900,0
28	116,0	410,0
45	81,0	121,0
49	33,7	45,5
52	4,5	6,6
59	0,9	2,7

Таблица 2. Динамика численности аммонифицирующей группы микроорганизмов в почве, загрязненной нефтью на 5,7 %

Сутки	Численность микроорганизмов, млн клет/г		
	чистая почва (контроль)	загрязненная почва (опыт № 1)	загрязненная почва (опыт № 2)
0	2	2	2
4	82	165	165
	без подкормки		подкормка V = 10 мл
7	320	260	8500
9	1600	2500	28000
15	900	700	54400
18	180	270	10000
29	50	92	2560

При загрязнении почвы в концентрации 5,7 % максимальная численность микроорганизмов с внесением подкормки на 15-е сутки культивирования составила 54 400 млн клет/г, в опытной емкости без подкормки – 2500 млн клет/г, в контрольной емкости с чистой почвой – 1600 млн клет/г. Таким образом, при загрязнении почвы в концентрации до 5,7 % нефть не угнетает жизнедеятельность микрофлоры, численность которой увеличивается за счет углеводородокисляющих микроорганизмов.

Изменения, полученные в результате ИК-спектрометрического и хроматографического анализов, свидетельствуют об ускорении деструктивных процессов при накоплении численности микроорганизмов (табл. 3, 4).

Таблица 3. Спектральные характеристики биodeградированной нефти Вахского месторождения

Спектральный коэффициент	Название коэффициента	Нефть Вахского месторождения		
		1-е сутки	30-е сутки без подкормки	30-е сутки с подкормкой
$C_1 = D_{1610}/D_{720}$	коэффициент ароматичности	0,807	0,798	1,087
$C_2 = D_{750}/D_{720}$	коэффициент интенсивности поглощения полициклических аренов и n-алканов	1,089	1,049	1,337
$C_3 = D_{720}/D_{1380}$	коэффициент относительной интенсивности метиленовых (CH ₂) и метильных (CH ₃) групп	0,289	0,276	0,220
$CH_3/CH_2 = D_{1380}/D_{720}$	коэффициент разветвленности парафиновых структур	3,464	3,623	4,548
$(C=O) = D_{1710}/D_{1610}$	коэффициент интенсивности образования продуктов окисления углеводородов	0,516	0,699	0,710

ИК-спектрометрический анализ показал наличие новых полос поглощения в пробе нефти после биodeградации, однако расчет спектральных коэффициентов подтвердил ингибирующее действие высокой концентрации углеводов на ферментативную активность. По данным табл. 3 видно, что особых изменений не произошло. Новые полосы поглощения с волновым числом 3413 и 1058 см⁻¹ указывают на появление в нефти после биodeградации веществ, имеющих группу OH⁻ (спирты), и бициклических углеводородов соответственно, что указывает на начальное окисление компонентов нефти.

По результатам хроматографических исследований коэффициент биodeструкции нефти, определяемый по отношению суммы изоалканов (пристан i-C₁₉ + фитан i-C₂₀) к сумме n-алканов (C₁₇ + C₁₈), за 30 суток увеличился, что свидетельствует о протекании процессов биodeградации (табл. 4). Хроматограммы, полученные в результате анализа, представлены на рис. 1 и 2.

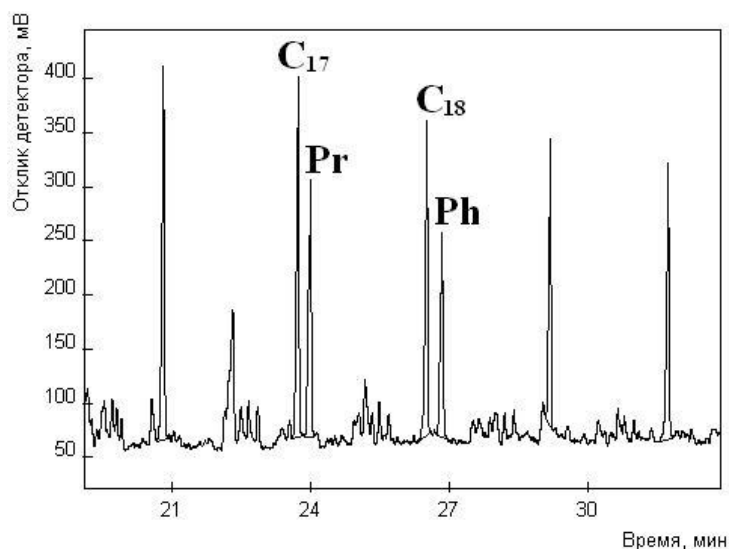


Рис. 1. Хроматограмма масляной фракции нефти из почвы на 30-е сутки биодеградации почвенной микрофлорой

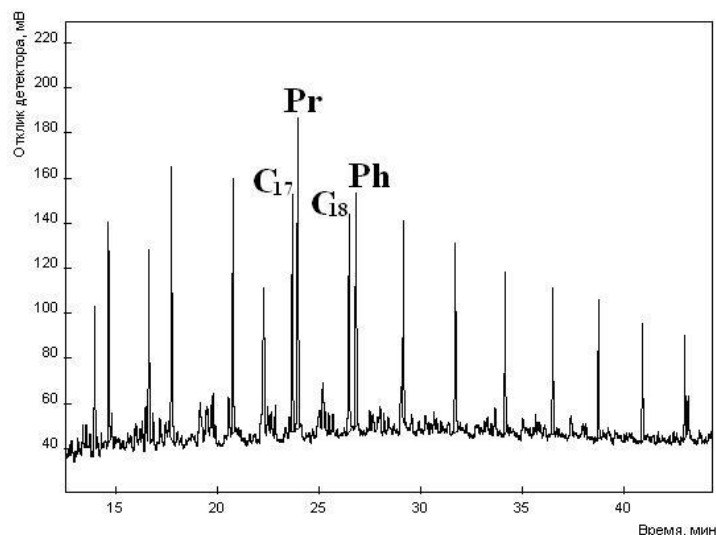


Рис. 2. Хроматограмма масляной фракции нефти из почвы на 60-е сутки биодеградации почвенной микрофлорой

Таблица 4. Показатели некоторых геохимических биомаркеров деструкции углеводородов нефти

Коэффициенты	30-е сутки	60-е сутки
$(Pr + Ph) / (C_{17} + C_{18})$	0,747	1,144
Pr / C_{17}	0,775	1,208
Ph / C_{18}	0,716	1,076

Таким образом, в условиях эксперимента внесение стимулирующих подкормок приводит к существенному росту бактериальной углеводородоксилирующей почвенной микрофлоры. Величины спектральных коэффициентов, рассчитанные по данным ИК-спектрометрического анализа биодеградированной нефти, и результаты хроматографического анализа показывают, что увеличение времени биодеструкции до 60 суток положительно влияет на протекание процессов окисления углеводородов нефти в почве. При загрязнении почвы нефтью Вахского месторождения в объеме 5...10 % для интенсификации процесса биологического окисления угле-

водородов в почве рекомендуется на 4-е сутки с момента загрязнения вносить стимулирующую минеральную подкормку следующего состава: 5%-й раствор композиции ПАВ, содержащей азотистые компоненты в концентрации 4,3 %, фосфаты (K_2HPO_4) – 0,2 %, соли магния ($MgSO_4$) – 0,1 % и 1 мл/л раствора микроэлементов по Хогланду.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Моделирование биодegradации нефти в почве микроорганизмами / В.В. Водопьянов, Н.А. Киреева, Т.С. Онегова и др. // Экологическая и промышленная безопасность. – М., 2002. – № 12. – С. 128–130.
2. Булатов В.И. Нефть и экология: научные приоритеты в изучении нефтегазового комплекса: аналит. обзор. – Новосибирск: ГПНТБ СО РАН, 2004. – 155 с.
3. Щеткова Е.А. Мониторинг пахотных почв и сельскохозяйственной продукции в окрестности нефтеперерабатывающих предприятий / Е.А. Щеткова, А.Т. Кайгородов, А.Е. Леснов // Экология и промышленность России. – М., 2010 – № 1. – С. 55–56.
4. Другов Ю.С., Родин А.А. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов: практическое руководство. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 270 с.
5. Другов Ю.С., Родин А.А. Экологическая аналитическая химия. – СПб., 2002. – 464 с.
6. Другов Ю.С. Газохроматографическая идентификация загрязнений воздуха, воды, почвы и биосред: практическое руководство / Ю.С. Другов, И.Г. Зеневич, А.А. Родин. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2005. – 752 с.
7. Другов Ю.С. Пробоподготовка в экологическом анализе / Ю.С. Другов, А.А. Родин, В.В. Кашмет. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: Лаб-Пресс, 2005. – 756 с.
8. Другов Ю.С., Родин А.А. Мониторинг органических загрязнений природной среды. – СПб.: Наука, 2004. – 808 с.

Поступила 12.01.2014 г.