

## Оценка эффективности применения биосорбента на основе карбонизата в процессе деструкции углеводородов нефти

© 2013. Е. С. Белик, аспирант,  
Л. В. Рудакова, д.т.н., профессор, М. Е. Калашникова, магистрант,  
Пермский национальный исследовательский политехнический университет,  
e-mail: zhdanova-08@mail.ru

Приведены данные экспериментальных исследований по оценке эффективности деструкции углеводородов нефти с помощью биосорбента, полученного методом иммобилизации углеводородоокисляющих микроорганизмов на пористой поверхности карбонизата – продукта термической переработки избыточного активного ила. Исследованы исходные физико-химические и микробиологические характеристики нефтезагрязнённой почвы, апробированы дозы биосорбента для очистки почвы от загрязнения с известным содержанием нефтепродуктов, определена эффективность использованного биосорбента, проведён сравнительный анализ результатов по биодеструкции углеводородов нефти традиционным способом биоремедиации и с использованием биосорбента.

The data of experimental studies are presented evaluating effectiveness of petroleum hydrocarbons degradation with the use of biosorbent produced by hydrocarbon-oxidizing microorganisms immobilized on carbonizateporous surface, which is a product of excess sludge thermal treatment. Physical, chemical and microbiological characteristics of oil-contaminated soil are investigated, biosorbent dose for purifying oil-contaminated soil are tested, biosorbentefficacy is evaluated, and comparative analysis of petroleum hydrocarbons biodegradation results in the traditional way, as well as using bioremediation biosorbent, is made.

Ключевые слова: нефть, носитель, карбонизат, иммобилизация, углеводородоокисляющие микроорганизмы, биосорбент, биоремедиация

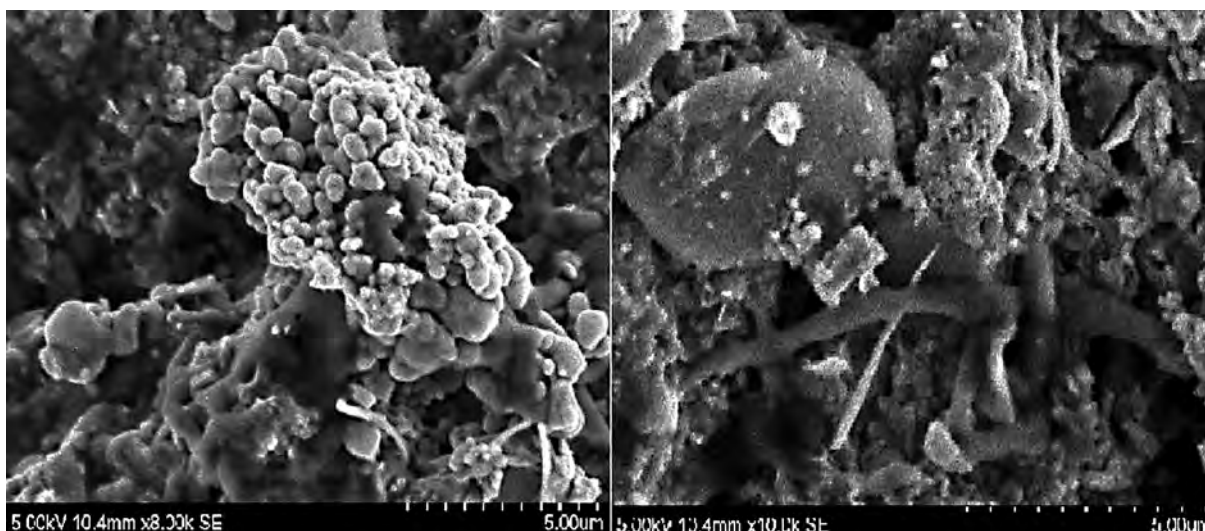
Keywords: oil, carrier, carbonizate, immobilization, hydrocarbon-oxidizing microorganisms, biosorbent, bioremediation

Одним из важнейших природных ископаемых и незаменимым энергоресурсом в настоящее время является нефть, объёмы добычи которой постоянно увеличиваются как в России, так и во всём мире в целом. В процессах разведки, добычи, транспортировки, хранения и переработки нефти и нефтепродуктов технологические потери и потери, обусловленные аварийными ситуациями, составляют 9,5% [1]. Попадание углеводородов нефти в окружающую среду оказывает негативное воздействие на все природные объекты, прежде всего на почву.

Для очистки нефтезагрязнённых почв применяются различные технологии, отличающиеся по способам деструкции нефтепродуктов (механические, физико-химические, биологические), аппаратному оформлению, длительности процесса, достигаемой эффективности, экономическим затратам. Выбор технологий очистки и восстановления почв, загрязнённых углеводородами нефти, основан на использовании комплексного эколого-экономического критерия, учитывающего основные технологические параметры процесса и экологическую эффективность

получаемых результатов. Одним из главных и приоритетных направлений в области охраны окружающей среды и рационального природопользования является разработка и внедрение усовершенствованных технологий восстановления почв методом биоремедиации, основанного на принципе самоочистения нефтезагрязнённых почв с участием аборигенной или привнесённой микрофлоры. Перспективным направлением по очистке почв от нефти с помощью микроорганизмов является использование биосорбентов, представляющих собой биопрепарат, изготовленный на основе природного или искусственно синтезированного носителя с иммобилизованными на нём клетками микроорганизмов или ферментами.

В результате экспериментальных исследований, проведённых на кафедре охраны окружающей среды Пермского национального исследовательского политехнического университета, были получены образцы биосорбента на основе карбонизата с иммобилизованными на его поверхности углеводородоокисляющими микроорганизмами (УВОМ) (рис.). Карбонизат представляет собой продукт термической переработки избыточного активного ила био-



**Рисунок.** Микрофотографии иммобилизованных углеводородокисляющих микроорганизмов на поверхности карбонизата (растровая электронная микроскопия)

химических очистных сооружений предприятий нефтехимического комплекса [2].

Цель работы заключалась в оценке эффективности использования полученного биосорбента в процессе деструкции углеводородов нефти. Поставленную цель достигали решением следующих задач: изучение физико-химических и микробиологических характеристик исходной нефтезагрязнённой почвы (НЗП), определение дозы биосорбента в зависимости от содержания нефтепродуктов, определение эффективности использования биосорбента в технологии биоремедиации.

### Экспериментальная часть

Объектом исследования являлся биосорбент на основе карбонизата с иммобилизован-

ными на его поверхности углеводородокисляющими микроорганизмами [3, 4].

Для подтверждения факта иммобилизации микроорганизмов на пористой поверхности матрицы образцы были исследованы под сканирующим микроскопом S-3400N Hitachi (рис.).

Эксперимент по биоремедиации нефтезагрязнённой почвы (НЗП) проводили в соответствии с известной технологией биокомпостирования, которая заключается в смешивании нефтезагрязнённого грунта с различными компонентами, в том числе структураторами, органическими и неорганическими удобрениями, биологически активными препаратами [5]. При использовании биопрепаратов необходимо создать благоприятные для жизнедеятельности УВОМ условия, посредством кор-

**Таблица 1**

Характеристика исходной нефтезагрязнённой почвы

Показатель	Единица измерения	Значение показателя
Физико-химические показатели		
Реакция среды	ед. pH	6,5±0,5
Влажность	%	18±2,5
Почвенный воздух	мг CO <sub>2</sub> /(дм *ч)	0,345
Нефтепродукты	г/кг	35±5
Микробиологические показатели		
Общее количество микроорганизмов	кл/г	6,4·10 <sup>5</sup>
Сапрофитные бактерии	КОЕ/г	(5,4 ± 0,7) 10 <sup>7</sup>
УВОМ	КОЕ/г	(4,5 ± 2) 10 <sup>6</sup>
Бактерии р. <i>Azotobacter</i>	% обрастания комочков	85
Олигонитрофилы	КОЕ/г	(1,65±0,4) 10 <sup>8</sup>
Актиномицеты	КОЕ/г	(1,3±0,11) 10 <sup>9</sup>
Микроскопические грибы	КОЕ/г	(1,1±0,3) 10 <sup>9</sup>

Таблица 2

Варианты исследуемых способов очистки нефтезагрязнённых почв					
Субстрат	Варианты способа очистки НЗП				
	Контроль 1	Контроль 2	3	4	5
Рецептура	Опил : НЗП	Карбонизат : НЗП	Суспензия микроорганизмов : опил : НЗП	Биосорбент : опил : НЗП	Биосорбент : НЗП
Массовые соотношения, доля	1:8	1:700	1:20:150	1:100:650	1:700 1:375 1:250

ректировки реакции почвенной среды, улучшения структуры почвы, оптимизации температурного режима.

В ходе экспериментальных исследований на протяжении 150 сут поддерживали постоянные условия: температура воздуха  $20 \pm 2$  °С; рН среды 6,0–7,0; освещение естественное; влажность субстрата – 65–70%.

Объектом исследования служила загрязнённая нефтью Оренбургского месторождения почва. Физико-химическая и микробиологическая характеристика исходной нефтезагрязнённой почвы представлена в таблице 1.

Из исходной НЗП готовили субстраты с внесением структуратора – опила лиственных пород деревьев в различных весовых соотношениях, для интенсификации процесса в субстраты вносили биопрепараты в виде суспензии УВОМ и исследуемого биосорбента. В качестве контрольных образцов использовали субстрат на основе НЗП и опила в соотношении 8:1 (контроль 1) и субстрат из НЗП с добавлением карбонизата из расчёта 1,5; 3,0 и 4 г/кг (контроль 2).

Исследуемые в эксперименте варианты очистки НЗП представлены в таблице 2.

Экспериментальные исследования по биоремедиации НЗП проводили в лабораторных условиях в контейнерах ёмкостью 5 дм<sup>3</sup>.

Расчёт дозы внесения биосорбента провели по аналогии с применяемыми в промышленных технологиях биосорбентами: «БОС», «Биосорбонафт», «Эконадин», «Унисор-Био». На основании изученных данных по применению биосорбентов-аналогов установлено, что для ликвидации загрязнения с содержанием нефтепродуктов в почве  $40 \pm 5$  г/кг в среднем используют 200 г биосорбента на 1,0 м<sup>2</sup> нефтезагрязнённой почвы, в соответствии с этим доза внесения биосорбента в экспериментальных исследованиях составила – 2, 4, 6 г на 1,5 кг перерабатываемого субстрата.

Контроль процесса очистки НЗП в ходе эксперимента проводили по следующим физико-химическим показателям: реакция

среды (рН), содержание нефтепродуктов, влажность, почвенный воздух. Содержание нефтепродуктов определяли гравиметрическим способом [6], измерение рН осуществляли с помощью рН-метра [7], влажность почвы устанавливали при высушивании пробы почвы до постоянной массы при температуре  $105 \pm 5$  °С [8]. Одним из важнейших показателей биологической активности почвы, свидетельствующим об интенсивности жизнедеятельности почвенной биоты, является дыхание почв. Интенсивность дыхания микробной биомассы определяли по методу Роуэлла [9].

Микробиологический контроль осуществляли по следующим показателям: общее содержание микроорганизмов, численность сапрофитных бактерий, численность УВОМ, бактерий рода *Azotobacter*, олигонитрофилов, актиномицетов и микроскопических грибов. Выбранные для контроля группы микроорганизмов играют основную роль в биодеструкции нефтяных углеводородов [10].

Подготовку образцов для микробиологического анализа, технический посев, выращивание, подсчёт колоний и статистическую обработку данных производили по методикам, приведённым в специальной литературе [11 – 13].

Для выявления и учёта общей численности микроорганизмов в почвенных образцах использовали методы прямого микроскопирования клеток на фиксированных окрашенных мазках (метод Виноградского-Брида) [11] с использованием микроскопа Zeiss со встроенной видеокамерой.

Посев микроорганизмов на элективные среды проводили из разведений. Колонии микроорганизмов в зависимости от скорости роста подсчитывали через 1–15 суток инкубации. Лучшим разведением считали то, из которого при высеве на чашку Петри выросло от 30–50 до 100–150 колоний. Если число выросших колоний было меньше 10, то эти результаты для расчёта количества клеток в исходном образце не использовали [12 – 13].

**Результаты исследования**

Консорциум микроорганизмов в нефтезагрязнённой почве на седьмые сутки после внесения биосорбента представлен различными группами микроорганизмов: бактериями, актиномицетами, микроскопическими грибами и соответствует группам микроорганизмов, иммобилизованных на поверхности карбоната. В контрольных вариантах аналогичная картина появлялась на 12-е сутки, что свидетельствует о сокращении времени адаптации УВОМ к субстрату и в дальнейшем позволит сократить сроки проведения биоремедиации. В настоящее время получены первые результаты проведённых исследований по биоремедиации НЗП. Эффективность очистки почвы от нефтепродуктов через 3 месяца в исследуемых вариантах представлена в таблице 3. Как показывают данные, эффективность очистки от нефтепродуктов во всех опытных вариантах была выше, чем в контроле, и изменялась от 59,5% в варианте 5 (биосорбент: НЗП – 1:700) до 69% в варианте 4 (биосорбент: опил:НЗП в соотношении 1:100:650). Увеличение дозы биосорбента в варианте опыта 5 (соотношения – 1:375, 1:250) не привело к существенному повышению эффективности процесса очистки от нефтепро-

дуктов. Для объяснения данного факта требуется проведение дополнительных исследований.

Внесение в исследуемые субстраты УВОМ как в виде суспензии (вариант опыта 3), так и в виде биосорбента (варианты опыта 4, 5) привело к повышению эффективности очистки НЗП в 1,75–1,9 раза, по сравнению с контролем. Результаты микробиологического анализа субстратов приведены в таблице 4. По сравнению с исходным субстратом, количество УВОМ и микроскопических грибов возросло практически во всех исследуемых вариантах, появились бактерии р. *Azotobacter*, а количество олигонитрофилов уменьшилось в десятки раз. В опытных вариантах (3-5), по сравнению с контролем, количество УВОМ увеличилось в 1,5–2,0 раза, появились микроскопические грибы, что свидетельствует об интенсификации процесса биодеструкции углеводородов нефти. Появление бактерий р. *Azotobacter* указывает на снижение токсичности субстрата.

**Заключение**

Результаты проведённых исследований показали:

– во всех исследуемых вариантах идёт процесс биодеструкции углеводородов неф-

**Таблица 3**

Эффективность очистки почвы от нефтепродуктов

Параметры	Варианты способов очистки НЗП				
	Контроль 1	Контроль 2	3	4	5
Содержание НП, г/кг	25,7	24,9	13,5	12,4	16,2
Эффективность очистки, %	35,75	37,75	66,25	69	59,5

Примечание: 3, 4, 5 – способы очистки те же, что и в таблице 2.

**Таблица 4**

Результаты микробиологического анализ исследуемых субстратов

Показатели	Исходный субстрат	Варианты опытов				
		Контроль 1	Контроль 2	3	4	5
Общее количество микроорганизмов, кл./г	$6,4 \cdot 10^5$	$3,8 \cdot 10^5$	$3,9 \cdot 10^5$	$4,5 \cdot 10^5$	$9,6 \cdot 10^5$	$9,1 \cdot 10^5$
Сапрофитные бактерии, КОЕ/г	$(5,4 \pm 0,7) \cdot 10^7$	$(5,4 \pm 0,7) \cdot 10^7$	$(2,5 \pm 0,5) \cdot 10^7$	$(3,2 \pm 0,5) \cdot 10^7$	$(1,9 \pm 0,4) \cdot 10^7$	$(3,5 \pm 0,6) \cdot 10^7$
УВОМ, выросшие на среде К, КОЕ/г	$(4,5 \pm 2) \cdot 10^6$	$(2,83 \pm 0,2) \cdot 10^8$	$(2,91 \pm 0,16) \cdot 10^8$	$(3,28 \pm 0,17) \cdot 10^8$	$(5,62 \pm 0,22) \cdot 10^8$	$(4,3 \pm 0,18) \cdot 10^8$
Бактерии р. <i>Azotobacter</i> , % обрастания комочков	85	95	90	100	100	100
Олигонитрофилы, КОЕ/г	$(1,3 \pm 0,11) \cdot 10^9$	$(0,97 \pm 0,09) \cdot 10^8$	$(0,37 \pm 0,06) \cdot 10^8$	$(0,17 \pm 0,04) \cdot 10^8$	$(0,68 \pm 0,08) \cdot 10^8$	$(4 \pm 1,8) \cdot 10^6$
Актиномицеты, КОЕ/г	$(1,1 \pm 0,3) \cdot 10^9$	$(1,6 \pm 0,1) \cdot 10^8$	$(1,7 \pm 0,2) \cdot 10^8$	$(2,5 \pm 1,4) \cdot 10^6$	$(1,8 \pm 0,1) \cdot 10^8$	$(1,5 \pm 0,3) \cdot 10^8$
Микроскопические грибы, КОЕ/г	Отс.	Отс.	$(0,5 \pm 0,7) \cdot 10^6$	$(1,0 \pm 0,9) \cdot 10^6$	$(0,5 \pm 0,7) \cdot 10^6$	$(2,0 \pm 1,3) \cdot 10^6$

ти, о чём свидетельствует как снижение содержания нефтепродуктов, так и изменение структуры ценоза микроорганизмов;

– наиболее эффективно процесс протекает в вариантах опыта с внесением биопрепаратов в виде суспензии УВОМ и биосорбента;

– увеличение дозы сорбента не привело за исследуемый период времени к значительному повышению эффективности процесса биодеструкции;

– для оценки эффективности очистки НЗП необходимо учитывать не только дозу внесённого биопрепарата, но и плотность внесённой культуры УВОМ, поскольку при отсутствии такого показателя затруднительно получить корректные данные о возможности применения биосорбента;

– если определение плотности суспензии УВОМ не составляет проблемы и возможно с помощью стандартных методик, то для оценки плотности культуры УВОМ в биосорбенте необходима разработка новой или модификация существующей методики, учитывающей условия и способ иммобилизации и физико-химические особенности матрицы;

– использование в качестве матрицы для иммобилизации углеводородокисляющих микроорганизмов карбонизата – продукта термической утилизации избыточного активного ила – позволило получить биосорбент, применение которого привело к повышению эффективности деструкции углеводородов нефти;

– для подтверждения полученных предварительных данных исследований проводятся дополнительные исследования, направленные на обоснование оптимальной дозы внесения биосорбента.

## Литература

1. Газовик-нефть. Резервуары и технологическое оборудование [http:// gazovikneft.ru/articles/poteri/](http://gazovikneft.ru/articles/poteri/).
2. Вайсман Я.И., Глушанкова И.С., Дьяков М.С., Ходяшев М.Б. Экологически безопасный способ утилизации осадков сточных вод биохимических очистных сооружений с получением углеродсодержащих сорбционных материалов // Вода: химия и экология. 2011. № 3. С. 14–24.
3. Белик Е.С., Рудакова Л.В. Исследование физической иммобилизации углеводородокисляющих микроорганизмов на пористой поверхности карбонизата // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2012. № 7.
4. Жданова Е.С., Рудакова Л.В. Обоснование возможности получения биосорбентов для ликвидации нефтяных загрязнений природных объектов // Вестник ПГТУ «Урбанистика». 2011. № 3. С. 97–107.
5. Вайсман Я.И. Тенденции и перспективы управления твёрдыми бытовыми отходами на урбанизированных территориях // Вестник Пермского государственного университета «Урбанистика». 2011. № 1. С. 81–99.
6. РД 52.18.647-2003. Методические указания. Определение массовой доли нефтепродуктов в почвах. Методика выполнения измерений гравиметрическим методом.
7. ГОСТ 26423-85. Почвы. Методы определения удельной электрической проводимости, рН и плотного остатка водной вытяжки.
8. ГОСТ 5180-84. Грунты. Методы лабораторного определения физических характеристик.
9. Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований. Ростов н/Д: Изд-во РГУ, 2003. 246 с.
10. Практикум по микробиологии / Под ред. Е.З. Тепера. Изд-во Дрофа, 2004. С. 256.
11. Звягинцев Д.Г., Гузев В.С., Левин С.В. Диагностические признаки различных уровней загрязнения почвы нефтью // Почвоведение. 1989. № 1. С. 72–78.
12. Практикум по микробиологии / Под ред. А.И. Нетрусова. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 608 с.
13. Учебник по микробиологии / Под ред. А.И. Нетрусова, И.Б. Котовой. М.: Издательский центр «Академия», 2006. 352 с.