

На основании выполненных исследований разработана схема управления опасными свойствами отходов производства с целью обеспечения возможности извлечения их материального потенциала.

## Литература

1. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодovitости периодафний ФР.1.39.2007.03221.

2. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодovitости дафний ФР 1.39.2007.03222.

3. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по из-

менению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей ФР 1.39.2007.03223.

4. Методика определения токсичности почвы и донных осадков экспресс-методом с применением прибора «Биотестер» ФР.1.39.2005.01883.

5. Приказ Министерства природных ресурсов РФ № 511 от 15 июня 2001 г. «Об утверждении критериев отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей среды».

6. Калинин Е.В., Рудакова Л.В., Петров В.Ю. Критерии оценки системы обращения с отходами производства кальцинированной соды // Экология и промышленность России. № 5. 2011. С. 44–47.

7. Вайсман Я.И., Глушанкова И.С., Калинин Е.В., Дьяков М.С. Термическая утилизация избыточного ила муниципальных очистных сооружений на примере г. Перми // Вода: экология и технология «Экватек-2008»: Материалы Восьмого международного конгресса. Москва. С. 886–891.

УДК 504.53.064.4:606

## Влияние интенсивности аэрации субстрата в биореакторе на деструкцию углеводов нефти

© 2013. М. В. Ахмадиев, ассистент,

Л. В. Рудакова, д.т.н., профессор, Э. Х. Сакаева, к.т.н., доцент,

Пермский национальный исследовательский политехнический университет,

e-mail: zamok-max@yandex.ru

Исследовано влияние интенсивности аэрации субстрата на процесс биоремедиации нефтезагрязнённых почв в аэробном биореакторе и биореакторе с микроаэрофильными условиями. Приведены результаты микробиологических исследований и динамика деструкции углеводов нефти в нефтезагрязнённых почвах в условиях биореакторов. Проведён сравнительный анализ эффективности биодеструкции нефтепродуктов в биореакторах.

The effect of substrate aeration intensity on the dynamics of bioremediation of oil-contaminated soils in an aerobic bioreactor and a bioreactor with microaerophilic conditions. The results of microbiological research and dynamics of oil products biodegradation in oil-polluted soils in conditions of in bioreactors are shown. A comparative analysis is made of biodegradation efficiency of oil products in bioreactors.

Ключевые слова: биоремедиация, биореактор, углеводородокисляющие микроорганизмы, нефтезагрязнённая почва, микробная сукцессия

Keywords: bioremediation, bioreactor, oil-oxidizing microorganisms, oil polluted soil, succession of microorganisms

Ежегодно в Пермском крае добывается около 10 млн. т нефти, из них около 3% (300 тыс. т) составляют потери, обусловленные аварийными ситуациями, в результате чего происходит загрязнение объектов окружающей среды. Нефтепродукты способны накапливаться в поверхностном слое почвы, которая играет роль органо-сорбционного барье-

ра. Миграция нефтепродуктов по почвенному профилю зависит от степени растворимости в водной среде отдельных компонентов нефти.

При попадании нефтепродуктов в почву, загрязнённая почва становится основным трофическим субстратом для углеводородокисляющих микроорганизмов (УВОМ). Происходит угнетение почвенных биоценозов, раститель-

ных и животных сообществ. Подавляется ферментативная активность почвы [1, 2].

В связи с этим для Пермского края актуален вопрос восстановления нарушенных нефтезагрязнённых почв (НЗП).

Восстановление нефтезагрязнённых территорий является длительным, многоэтапным процессом, который требует системного подхода и комплексного экономически обоснованного и экологически безопасного решения.

В настоящее время широко применяется метод биоремедиации почв, основанный на способности микроорганизмов осуществлять биодеструкцию различных ксенобиотиков, в том числе и углеводородов нефти. Метод биоремедиации реализуется на специально оборудованных технологических площадках или с применением интенсивных биореакторных технологий.

Скорость биодеструкции ксенобиотиков на технологических площадках зависит от природно-климатических особенностей территории, поэтому процесс восстановления и конечные результаты трудно прогнозируются. Применение биореакторной технологии позволяет избежать этих недостатков, проводить процесс при контролируемых оптимальных параметрах (температура, влажность и др.).

Влияние ряда абиотических факторов на скорость биодеструкции углеводородов нефти: температуры, влажности, объёмной доли структуратора – было установлено в ранее проведённых исследованиях [3, 4].

Цель работы заключалась в исследовании влияния аэрации субстрата на процесс биодеструкции углеводородов нефти в почве.

Поставленная цель достигалась решением следующих задач:

- планирование и проведение экспериментальных исследований по определению

влияния интенсивности аэрации субстрата на процесс деструкции углеводородов нефти в условиях биореактора;

- исследование структуры биоценоза микроорганизмов в перерабатываемых субстратах в аэробных и микроаэрофильных условиях;

- изучение особенностей динамики деструкции углеводородов нефти при различных условиях аэрации в биореакторах.

Предметом исследования являлся процесс биоремедиации нефтезагрязнённой дерново-подзолистой почвы, образцы которой были отобраны на территории Пермского края в районе аварийного разлива нефти.

### Материалы и методы исследования

Для изучения влияния степени аэрации субстрата на процесс очистки нефтезагрязнённой почвы (НЗП) был смоделирован процесс биоремедиации в лабораторных реакторах с различными условиями аэрации: аэробный биореактор и биореактор с микроаэрофильными условиями.

Конструкции биореакторов представляли собой ёмкости вертикального типа, выполненные из коррозионно-стойкого материала объёмом 0,25 м<sup>3</sup>: аэробный биореактор – цилиндрическая ёмкость с перемешивающим устройством; биореактор с микроаэрофильными условиями – герметично закрытая цилиндрическая ёмкость.

Параметры процесса биоремедиации НЗП в реакторах представлены в таблице 1.

Микроаэрофильные условия создавались путём герметизации биореактора с возможностью периодического притока кислорода для предотвращения создания анаэробных условий.

В процессе развития бактериальной культуры происходит постепенное снижение содержания кислорода в субстрате до 5%. При

Таблица 1

Параметры процесса биоремедиации в лабораторных биореакторах с различными условиями аэрации субстрата

Тип биореактора	Параметры процесса	Значения параметров
Аэробный биореактор	Температура, °С	20±2
	Влажность, %	70–80
	Содержание кислорода, %	18–19
	Перемешивание	Без перемешивания
Биореактор с микроаэрофильными условиями	Температура, °С	+20±2
	Влажность, %	70–80
	Содержание кислорода, %	4–5
	Перемешивание	1 раз в 2 недели

Таблица 2

Изменение микробиологических характеристик НЗП

Показатели	Ед. изм.	Исходная нефтезагрязнённая почва	Аэробный биореактор	Биореактор с микроаэрофильными условиями
Общее количество бактериальных клеток	Кл/г	$(10,6 \pm 0,64) \cdot 10^8$	$(1,87 \pm 0,14) \cdot 10^7$	$(1,92 \pm 0,14) \cdot 10^7$
Количество сапрофитных бактерий	КОЕ/г	$(4,45 \pm 0,94) \cdot 10^7$	$(2,65 \pm 0,36) \cdot 10^7$	$(4,25 \pm 0,46) \cdot 10^6$
Количество УВОМ	КОЕ/г	$(5,85 \pm 1,08) \cdot 10^6$	$(3,00 \pm 0,39) \cdot 10^5$	$(8,70 \pm 0,66) \cdot 10^5$
Количество актиномицетов	КОЕ/г	$(5,16 \pm 0,32) \cdot 10^6$	$(3,23 \pm 0,41) \cdot 10^7$	$(6,55 \pm 0,46) \cdot 10^7$
Количество микроскопических грибов	КОЕ/г	Не обнаружено	$(3,00 \pm 1,22) \cdot 10^2$	$(1,10 \pm 0,08) \cdot 10^4$
Обрастание почвенных комочков бактериями рода <i>Azotobacter</i>	% обрастания	65	90	90

содержании кислорода в субстрате менее 1% возникает анаэробноз [5].

Аэробные условия создавали путём пассивной аэрации субстрата атмосферным воздухом, в составе которого содержится 21% кислорода. Возникновение слабоаэрируемых зон предотвращали путём перемешивания субстрата.

Нефтезагрязнённую дерново-подзолистую почву помещали на 180 суток в лабораторные биореакторы дискретного действия, в которых поддерживали постоянные параметры: температуру, влажность, содержание кислорода.

Создание оптимальных абиотических условий среды позволило активировать аборигенную микрофлору, в которой присутствуют различные ассоциации микроорганизмов, способные к биодegradации широкого спектра фракций углеводородов нефти.

Для аэробного биореактора, с целью предотвращения возникновения плохо аэрируемых зон, в рецептуру субстрата включали 30% об. древесного опила с размером частиц 5–7 мм [3, 4]. Добавление опила позволило улучшить воздушный режим почвы. Для устранения слеживаемости субстрата производили перемешивание субстрата 1 раз в две недели с помощью специального устройства.

Для отбора почвенной пробы из реактора с микроаэрофильными условиями 1 раз в две недели производили открытие биореактора и изъятие почвенного образца из глубины биореактора.

В процессе наблюдения за динамикой процесса биоремедиации НЗП определяли микробиологические показатели, для чего производили посеы из почвенной суспензии на элективные твёрдые питательные среды: МПА

(мясо-пептонный агар) – для учёта сапрофитов, среду Чапека – для учёта микроскопических грибов, среду «К» – для учёта УВОМ, КАА (крахмало-аммиачный агар) – для учёта актиномицетов, среду Эшби – для определения бактерий р. *Azotobacter*, методом обрастания комочков почвы [5].

Общую бактериальную численность определяли методом прямого счёта, с использованием микроскопа «Carl Zeiss».

Эффективность процесса очистки НЗП определяли по изменению общего содержания углеводородов нефти в почве при помощи ИК-спектрометрии.

### Результаты и их обсуждение

Перед началом экспериментальных исследований проведена оценка исходной НЗП по микробиологическим и физико-химическим показателям. В таблице 2 представлена характеристика исходного субстрата и очищенной НЗП в аэробном биореакторе и биореакторе с микроаэрофильными условиями по микробиологическим показателям.

Изменения микробиологических показателей исследуемых субстратов в аэробном биореакторе и биореакторе с микроаэрофильными условиями носили аналогичный характер.

В процессе очистки наблюдалось постепенное увеличение общей бактериальной численности, что свидетельствовало о снижении токсичности НЗП и как следствие развитии новых групп микроорганизмов. По достижению максимальных значений (20-е сутки) происходило постепенное снижение общей бактериальной численности (рис. 1),

что обусловлено уменьшением концентрации нефтепродуктов в почве, являющихся питательным субстратом для некоторых групп микроорганизмов.

Микроорганизмы, выделенные на среде МПА в исходной почве, были представлены в основном родами *Pseudomonas sp.* и *Rhodococcus sp.*, а к концу экспозиции, кроме представленных родов, появились виды родов *Bacillus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Nocardia sp.* и др.

Количество сапрофитных микроорганизмов к концу экспозиции изменялось незначительно, но с тенденцией постепенного снижения, что также обусловлено уменьшением содержа-

ния нефтепродуктов, доступных в качестве питательных элементов. В дальнейшем динамика процесса характеризовалась приближением численности сапрофитов к фоновым показателям, которые были установлены ранее проведёнными экспериментальными исследованиями.

Приближение к фоновым показателям свидетельствовало о том, что в процессе очистки восстанавливаются исходные условия формирования микробиоценоза, которые были изменены при попадании нефти и нефтепродуктов в почву.

В ходе исследований проводили наблюдения за динамикой численности углеводородокисляющих микроорганизмов (УВОМ), кото-

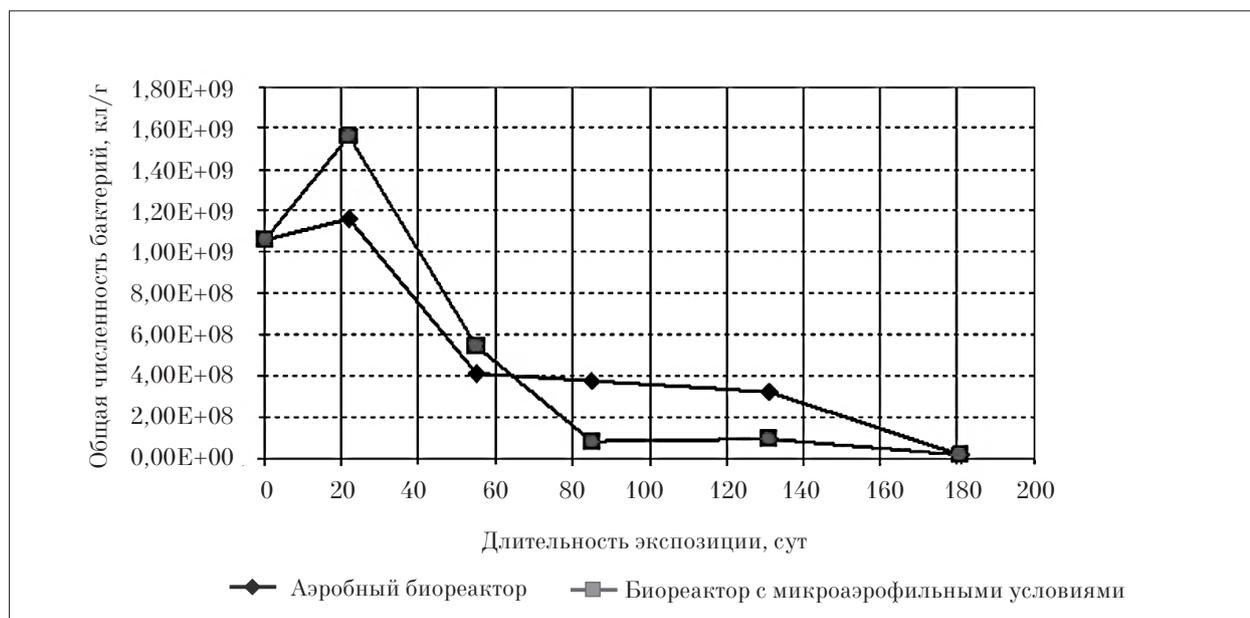


Рис. 1. Динамика общей бактериальной численности

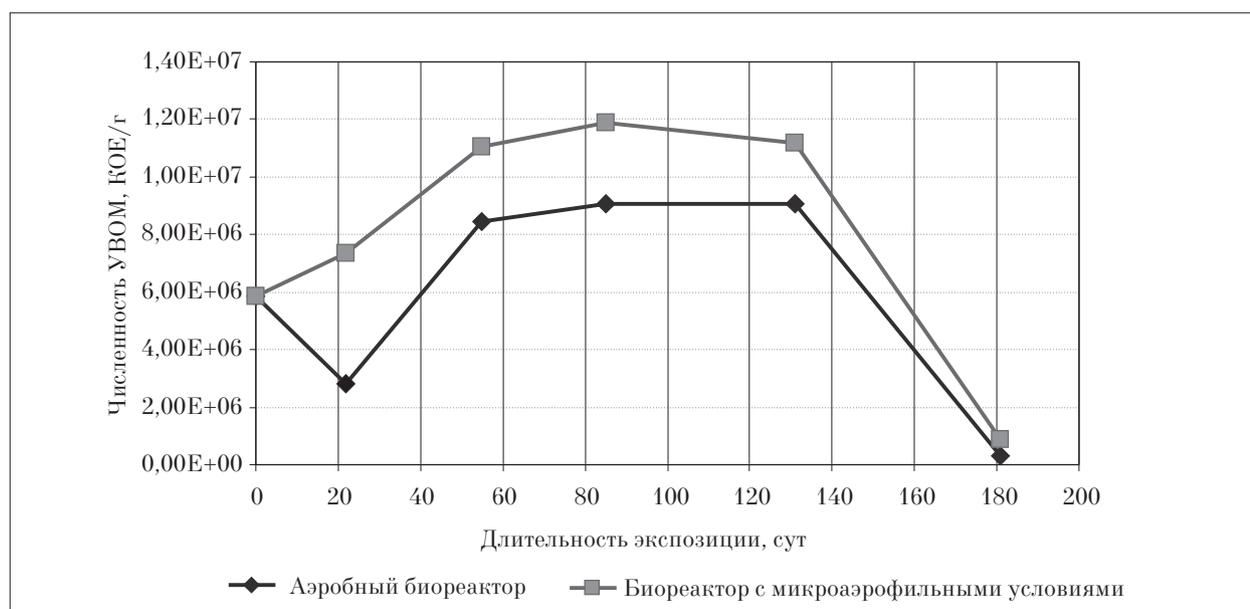


Рис. 2. Динамика численности углеводородокисляющих микроорганизмов

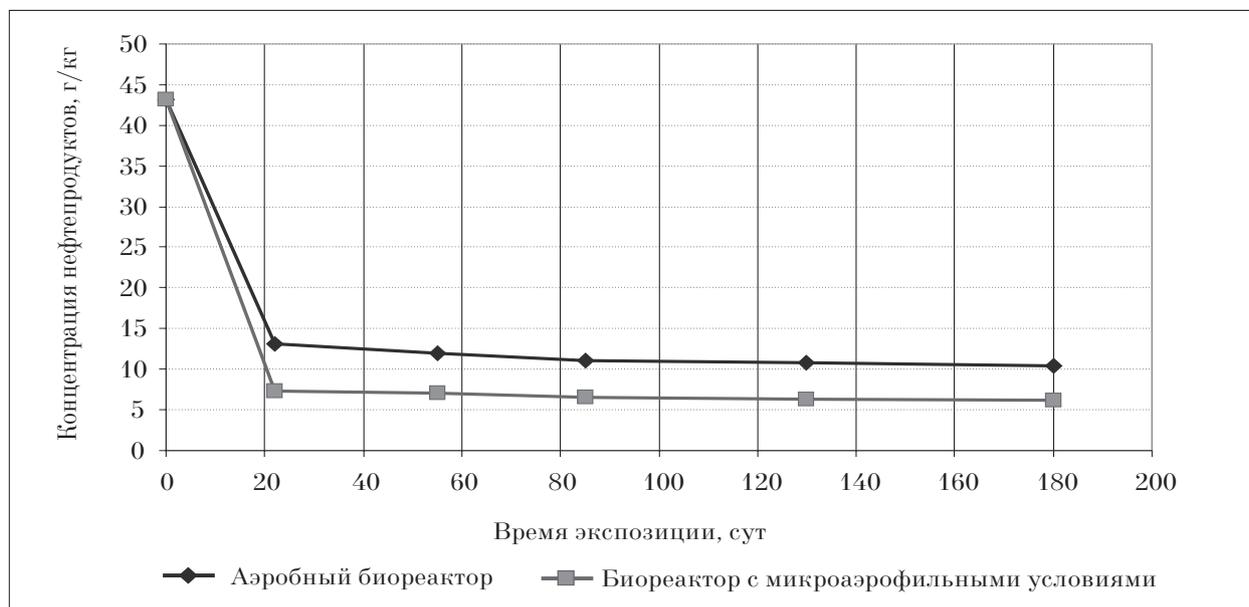


Рис. 3. Динамика снижения концентрации нефтепродуктов в почве

рые являются основными деструкторами различных фракций углеводородов нефти.

В соответствии с рисунком 2 динамика численности УВОМ носила сходный характер в обоих биореакторах. Различие состояло в том, что численность УВОМ в реакторе с микроаэрофильными условиями была выше на пол-порядка, что потенциально может обеспечить большую эффективность очистки почвы от загрязнения углеводородами нефти. Более развитие УВОМ в биореакторе с микроаэрофильными условиями могло быть обусловлено развитием факультативных анаэробных микроорганизмов, которые не могут активно развиваться в условиях высокого содержания в субстрате кислорода. В микроаэрофильных условиях может образовываться широкий спектр соединений в результате биодеструкции компонентов нефти, что и обуславливает большее биологическое разнообразие микробного сообщества.

Снижение численности УВОМ к концу экспозиции происходило из-за уменьшения содержания нефтепродуктов в почве, что является индикатором завершения процесса биодеструкции углеводородов нефти.

Важным показателем состояния почв любого типа является присутствие азотфиксирующих бактерий. В связи с этим были проведены работы по выявлению бактерий рода *Azotobacter*. В процессе очистки НЗП наблюдалось увеличение процента обрастания комочков бактериями рода *Azotobacter sp.* К концу экспозиции процент обрастания достиг значений 90%, что свидетель-

ствовало о постепенном восстановлении НЗП и снижении токсичности углеводородов нефти для данного рода бактерий.

Известно, что в процессе биодеструкции нефтепродуктов большую роль играют актиномицеты и микроскопические грибы, которые используют труднодоступные для других групп микроорганизмов компоненты нефти и играют важную роль на завершающих этапах процесса биоремедиации, т. к. способны окислять остаточные малые концентрации нефтепродуктов.

Нефть, пропитывая почвенные частицы, ухудшает доступ кислорода к почвенным частицам, создаётся значительное количество микронзон с ограниченным доступом кислорода, что лимитирует развитие микроскопических грибов и актиномицетов.

В процессе очистки в биореакторах происходило увеличение численности актиномицетов, что свидетельствовало об улучшении воздушно-водного режима почвы. Актиномицеты доминируют на поздних стадиях микробной сукцессии, когда создаются условия для использования труднодоступных фракций углеводородов. В связи с этим в биореакторах наблюдалось увеличение численности актиномицетов по сравнению с исходной НЗП.

Появление микроскопических грибов свидетельствовало о детоксикации НЗП. Грибы в почвенных образцах были представлены в основном видами родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*.

Для оценки эффективности очистки НЗП в исследуемых биореакторах было определе-

но содержание нефтепродуктов в исходной почве и в исследуемых субстратах. Содержание нефтепродуктов в исходной почве составляло 43,2 г/кг. Изменение общего содержания нефтепродуктов в почве позволило установить динамику процесса очистки НЗП (рис. 3).

Полученные экспериментальные данные подтверждают возможность деструкции углеводородов нефти микроорганизмами в микроаэрофильных условиях. Эффективность процесса биодеструкции в аэробном биореакторе составила 76%, в то время как в биореакторе с микроаэрофильными условиями наблюдалась эффективность на уровне 86%.

### Заключение

Процесс биодеструкции углеводородов нефти в НЗП достаточно эффективно протекал и в аэробных условиях, и в микроаэрофильных условиях.

Изменение микробиологических характеристик в аэробном биореакторе и биореакторе с микроаэрофильными условиями характеризовалось аналогичной динамикой.

В микроаэрофильном биореакторе по сравнению с аэробным в НЗП наблюдалось большее развитие УВОМ, а также более высокая общая бактериальная численность. Большее развитие УВОМ обуславливало бо-

лее эффективную биодеструкцию углеводородов нефти.

Эффективность биоремедиации в биореакторе с микроаэрофильными условиями составила 86%, что на 10% выше, чем в аэробном биореакторе. Проведение биоремедиации НЗП в микроаэрофильных условиях можно предложить как способ интенсификации биореакторной технологии.

### Литература

1. Оборин А.А. Нефтезагрязнённые биогеоценозы: монография. УрО РАН; Перм. гос. техн. ун-т; Перм. гос. техн. ун-т. Пермь. 2008. 511 с.
2. Киреева Н.А. Микробиологические процессы в нефтезагрязнённых почвах. Уфа. 1994. 171 с.
3. Бикмансурова Э. Х., Рудакова Л. В., Ахмадиев М. В. Исследование процессов биоремедиации нефтезагрязнённых почв в лабораторных биореакторах различного типа // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2008. № 12. С. 21–26.
4. Ахмадиев М. В., Рудакова Л. В., Бикмансурова Э. Х. Разработка исходных данных для проектирования опытно-промышленного биореактора по биоремедиации нефтезагрязнённых почв // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2012. № 7. С. 34–37.
5. Практикум по микробиологии: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / Под ред. А. И. Нетрусова. М.: Академия, 2005. 608 с.