

АБОРИГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ЗАМАЗУЧЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД КАК ОСНОВА ЭКОЛОГИЧЕСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ

© 2011 А.Р. Гальперина

ФГУП ВПО «Астраханский государственный технический университет», г. Астрахань

Поступила 15.07.2011

В данной статье приводятся результаты по гидрохимическому и микробиологическому анализу замасученных сточных вод. Выявлено, что аборигенная микрофлора принимает активное участие в биодеградации нефтяных углеводородов. Внесение циано-бактериальных сообществ и высшей водной растительности активизирует процессы самоочищения сточных вод от нефтепродуктов. Об этом свидетельствуют убыль суммарных нефтяных углеводородов – на 98%; оптической плотности – на 71%.

Ключевые слова: аборигенная микрофлора, техногенные экосистемы, эковиотехнология.

Россия – одна из наиболее обеспеченных водными ресурсами стран, располагающая более чем 20% мировых запасов поверхностных и подземных вод. Используя при этом не более 3% речного стока ежегодно, Россия в целом ряде регионов испытывает острый дефицит в воде, обусловленный неравномерным ее распределением, а также низким качеством вод, особенно вод поверхностных водных объектов. Качество воды в них формируется под воздействием природных факторов и поступающих сточных вод промышленности, коммунального и сельского хозяйства. При этом влияние антропогенного загрязнения является определяющим. Воды главных рек страны – Волги, Дона, Кубани, Оби, Лены, Печоры, являющихся основными источниками питьевого водоснабжения, оцениваются как «загрязненные» [1].

Астраханская область находится в аридной климатической зоне. Повышенная инсоляция, превышение испарения над осадками – всё это обуславливает высокое водопотребление не только городами, но и сельским хозяйством. Между тем ежегодно большое количество воды полностью выводится из водооборота, вследствие его загрязнения нефтью и нефтепродуктами. Для ускорения процессов очистки и восстановления нарушенных нефтяными углеводородами экосистем целесообразно использовать биологические резервы не только микробных клеток, но и микробных сообществ и биоценозов, включающих организмы с разными биохимическими возможностями [2, 3].

Биологически «жесткие» нефтепродукты (продукты переработки нефти, такие как мазут, битум, асфальт, минеральные масла, получаемые из тяжелых фракций) представляют особую проблему биологического разрушения. Исследования данного вопроса немногочисленны [4-6] и свидетельствуют о том, что нефтепродукты значительно медленнее подвергаются биологическому разрушению.

Мазут (возможно, от арабского «мазхулат» - отбросы), жидкий продукт темно-коричневого цвета, остаток после выделения из нефти или продуктов ее вторичной переработки бензиновых, керосино-

вых и газойлевых фракций, выкипающих до 350-360°C. Мазут – смесь углеводородов (с молекулярной массой от 400 до 1000 г/моль), нефтяных смол (с молекулярной массой 500-3000 и более г/моль), асфальтенов, карбенов, карбоидов и органических соединений, содержащих металлы (V, Ni, Fe, Mg, Na, Ca). Физико-химические свойства мазута, зависящие от химического состава исходной нефти и степени отгона дистиллятных фракций, характеризуются следующими данными: вязкость 8-80 мм²/с (при 100°C), плотность 0,89-1 г/см³ (при 20°C), температура застывания 10-40°C, содержание серы 0,5-3,5 %, золы до 0,3 %, низкая теплота сгорания 39,4-40,7 Мдж/моль [7].

Применяются мазуты в качестве топлива для паровых котлов, котельных установок и промышленных печей. Воды, загрязненные мазутом образуются повсеместно: при работе ТЭС, котельных, а также при удалении воды из обводнившегося мазута. Миграция мазута в водной среде осуществляется в пленочной, эмульгированной и растворенной формах, среди которых наиболее сложной для удаления являются растворенная и эмульгированная формы. Так как в нефтепродуктах имеется значительное количество природных эмульгаторов, часто образуется устойчивая грубодисперсная эмульсия типа «вода-масло». Образование мелких частиц водной фазы, покрытых плотной нефтяной пленкой (оболочкой), в значительной степени затрудняет отделение мазута от воды. Кроме этого, на скорость и степень биодеградации нефтяных углеводородов влияет физическая форма, в которой они присутствуют в воде.

При наличии очень тонкой пленки нефтяных углеводородов на поверхности воды микроорганизмы действуют на огромной площади, имея доступ к кислороду и питательным веществам, растворенным в воде. Образование же водно-нефтяной эмульсии препятствует поступлению питательных веществ для развития микроорганизмов и выведению токсических продуктов обмена, что снижает скорость биодеградации [8].

Серьезную угрозу для окружающей природной среды Астраханской области представляют собой значительное количество предприятий, осуществ-

ляющих хранение и «перевалку» нефти и нефтепродуктов. На территории области находятся 5 нефтебаз и 1 распределительно-перевалочный комплекс. Обводнение нефтепродуктов – частое явление, наблюдаемое при длительном хранении. Согласно правилам технической эксплуатации [9] в зависимости от физико-химических свойств нефтепродуктов для их обезвоживания применяют отстаивание, отстаивание с подогревом, отстаивание с подогревом и с использованием деэмульгаторов, продувку воздухом, выпаривание под давлением или под вакуумом, центрифугирование. Наиболее эффективным способом обезвоживания высоковязких мазутов является термохимический способ обезвоживания в резервуарах с применением поверхностно-активных веществ (ПАВ) – деэмульгаторов. Наиболее эффективным деэмульгатором для обезвоживания мазутов и мазутных зачинок является кальцинированная сода. Зачистки – это отходы нефтепродуктов, которые образуются в результате очистки и отмытки резервуаров и транспортных емкостей (резервуаров, речных и морских нефтеналивных судов, железнодорожных цистерн).

Удаленную воду, содержащую большое количество нефтепродуктов и деэмульгаторов, сливают в накопители. На территории Астраханской области находятся более 10 водоемов-накопителей высокотоксичных сточных вод. Подобные сточные воды нельзя захоронить на полях фильтрации или сбросить в городскую канализацию вследствие их высокой токсичности. В настоящее время выявлено просачивание сточных вод в Волгу и грунтовые воды.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

С целью разработки технологии биоремедиации замазученных сточных вод исследованы сточные воды, образовавшиеся при обезвоживании мазута на одной из нефтебаз г. Астрахани.

Гидрохимические анализы сточных вод выполняли согласно общепринятым методикам [10].

Выделение аборигенных микроорганизмов различных физиологических групп из замазученных сточных вод осуществляли методом Коха на твердые питательные среды (агары) [11]: мясопептонный агар (МПА), Чапека, агар на основе сточной воды, специальные среды для выделения липолитиков, амилолитиков, протеолитиков, глюколитиков, сульфатредукторов, бродильщиков, целлюлолитиков.

Для выделения альго-бактериальных сообществ из сточных вод и получения накопительной культуры использовались общепринятые в гидробиологической практике методы [12]. Соотношение сточной воды и элективной среды для цианобактерий составило 1:1. Колбы выдерживались при ком-

натной температуре и естественном освещении до появления кожисто-слизистых дерновинок цианобактерий.

Для интенсификации процессов самоочищения замазученных сточных вод был поставлен модельный эксперимент, имитирующий все стадии биологической очистки, включающий в себя: фильтрацию через песчаный фильтр, принудительное аэрирование, внесение в качестве агентов биологической очистки циано-бактериальных сообществ, иммобилизованных на инертном носителе, и высшей водной растительности. Для постановки эксперимента использовали накопительную культуру циано-бактериального сообщества (ЦБС), выделенного из сточных вод отстойника (микроэкосистема 3) и альгологически чистую культуру циано-бактериального сообщества из коллекции кафедры прикладной биологии и микробиологии АГТУ (микроэкосистема 2). Контролем служила микроэкосистема со сточной водой (микроэкосистема 1). В микроэкосистемах отслеживались следующие параметры: убыль суммарных нефтяных углеводородов, содержание растворенного кислорода, БПК₅, перманганатная и бихроматная окисляемость, содержание растворенного органического вещества, оптическая плотность вод [10].

Резервуар-накопитель представляет собой искусственную емкость округлой формы диаметром около 35 м, выложенную из кирпича в 50-х гг. XX в. Резервуар выполняет функцию накопителя сточных вод, образовавшихся в процессе обезвоживания мазута. В настоящее время объем сточных вод с остаточной замазученностью, содержащихся в резервуаре-накопителе, составляет 40000 тонн, максимальная глубина 4-6 м.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе гидрохимических исследований выявлено, что для сточных вод поверхностного горизонта резервуара-накопителя отмечается превышение ПДК для рыбохозяйственных водоемов: общая минерализация (2920 мг/м³) – 3 ПДК, хлорид-ионы (1420 мг/м³) – 5 ПДК, нефтяные углеводороды (76,4 мг/дм³) – 255 ПДК. Гидрокарбонаты содержатся в количестве 1530 мг/м³, рН среды – 8,0 (слабощелочная). Согласно проведенным исследованиям методом биотестирования сточные воды можно отнести к сильнозагрязненным, класс опасности II.

При изучении гетеротрофной микрофлоры сточных вод резервуара-накопителя были выделены микроорганизмы различных физиологических групп: сапротрофы, протеолитические, целлюлолитические, амилолитические, сахарозолитические, глюколитические, бродильщики, липолитические, сульфатредуцирующие, автохтонные (рис. 1).

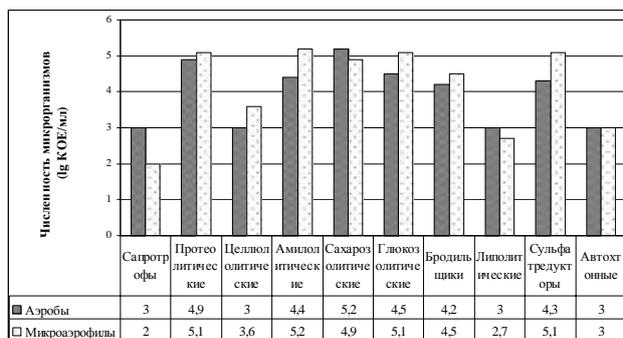


Рис. 1. Физиологические группы микроорганизмов замасоченных сточных вод

Максимальной численностью (10^5 КОЕ/мл) обладают микроорганизмы, усваивающие легко гидролизуемые полимеры, олигомеры (пептон, крахмал, сахара) и мономеры (глюкоза), минимальной (10^3 КОЕ/мл) – бактерии, гидролизующие более сложные соединения: белки, жиры, целлюлозу и автохтонное органическое вещество.

Из сточных вод резервуара-накопителя методом накопительной культуры было выделено циано-бактериальное сообщество, эдификаторами которого являются *Phormidium dimorphum*, *Synechocystis salina*, *Oscillatoria Woronichinii* [13].

При моделировании процессов самоочищения замасоченных сточных вод отмечена убыль СНУ на всех этапах очистки и во всех вариантах модельных экосистем, составившая: в контроле (микроэкосистеме 1) – 82,0%; в микроэкосистеме 2 – 91,3%; в микроэкосистеме 3 – 91,9%. Это свидетельствует о высоком потенциале интенсификации деградации нефтяных углеводородов как аборигенного ЦБС сточных вод, так и коллекционного ЦБС в комплексе с высшей водной растительностью (рис. 2).

Оптическая плотность сточных вод в течение эксперимента уменьшилась в микроэкосистеме 2 на 71%; в микроэкосистеме на 68%; в контрольной микроэкосистеме 1 на 8% (рис. 3).

Снижение оптической плотности сточных вод свидетельствует об интенсивно проходящих процессах биodeградации органического вещества. Это подтверждается и уменьшением значений таких показателей как бихроматная (до 77%), перманганатная окисляемость (до 77%), содержание растворенного органического вещества (до 66%) в микроэкосистемах по окончании эксперимента.

Таким образом, внесение циано-бактериальных сообществ и высшей водной растительности в сточные воды не только усиливает процессы биodeградации нефтепродуктов, но и ведет к существенному снижению органического вещества в воде.

При математической обработке результатов эксперимента с использованием граф-анализа выявлено, что автохтонная микрофлора имеет высокие коэффициенты корреляции с показателем оптической плотности и содержанием суммарных нефтяных углеводородов.

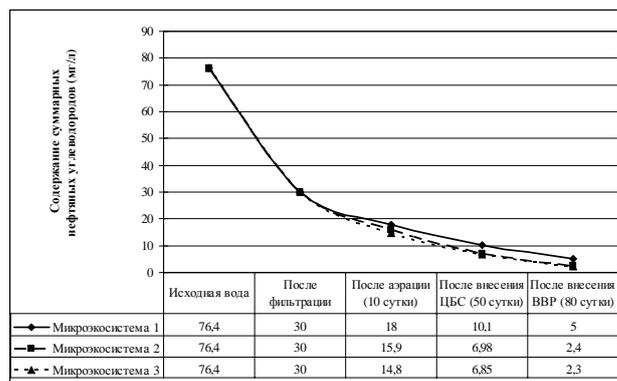


Рис. 2. Динамика содержания СНУ в сточной воде экспериментальных экосистем

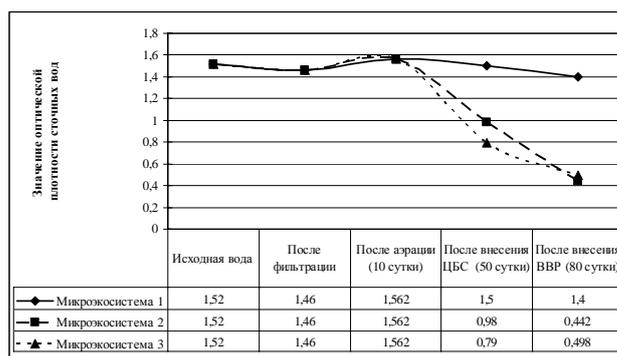


Рис. 3. Динамика оптической плотности сточной воды экспериментальных экосистем

Согласно коэффициентам биотрансформации веществ автохтонная микрофлора, с одной стороны, является самым интенсивным продуцентом растворенного органического вещества, а с другой – наиболее эффективным деструктором нефтяных углеводородов. Таким образом, данная физиологическая группа микроорганизмов обладает наиболее высоким потенциалом самоочищения и именно среди этой группы следует вести поиск активных микроорганизмов-деструкторов нефтяных углеводородов.

Таким образом, сточные воды резервуара-накопителя характеризуются высоким содержанием тяжелоокисляемых органических веществ и относятся к сильнозагрязненным, класс опасности – II. В ходе эксперимента из замасоченных сточных вод выделены аборигенные микроорганизмы различных физиологических групп: фототрофные (цианобактерии) и гетеротрофные (сапротрофы, протеолитические, целлюлозолитические, амилолитические, сахарозолитические, глюкозолитические, бродильщики, липолитические, сульфатредуцирующие, автохтонные); выявлено, что аборигенная микрофлора принимает активное участие в биodeградации нефтяных углеводородов; при моделировании многоступенчатой очистки замасоченных сточных вод (фильтрация → принудительное аэрирование → внесение циано-бактериальных сообществ, иммобилизованных на

инертном носителе → внесение высшей водной растительности), выявлено, что циано-бактериальные сообщества и высшая водная растительность участвуют в активизации процессов самоочищения сточных вод от нефтепродуктов, что создает предпосылки использования подобной технологии биоремедиации для разработки методов биологической очистки замазученных сточных вод.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Михеев Н.Н.* Проблемы технического загрязнения открытых и подземных источников водоснабжения и меры по обеспечению населения России питьевой водой. Глобальные вопросы природопользования [Электронный ресурс] / ОРДА; ред. Коренева И.Б. Режим доступа URL: <http://www.koreneva.com/>
2. *Янкевич М.И.* Формирование ремедиационных биоценозов для снижения антропогенной нагрузки на водные и почвенные экосистемы: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Щелково, 2002. 48 с.
3. *Сопрунова О.Б.* Особенности функционирования альго-бактериальных сообществ техногенных экосистем: Дис. ... д-ра биол. наук. М., 2005. 432 с.
4. *Грищенко В.Г., Гаязов Р.Р., Токарев В.Г. и др.* Бактериальные штаммы-деструкторы топочного мазута: характер деградации в лабораторных условиях // Прикл. биохимия и микробиология. 1997. Т. 33. № 4. С. 423-427.
5. *Карпов А.В., Селезнев С.Г., Аринбасаров М.У. и др.* Микробиологическая деструкция мазута: оценка изменений фракционного состава путем анализа ИК-Фурье-спектров // Прикл. биохимия и микробиология. 1998. Т. 34. № 6. С. 609-616.
6. *Сидоров Д.Г., Борзенков И.А., Милехина Е.И. и др.* Микробиологическая деструкция мазута в почве при использовании биопрепарата Деворойл // Прикл. биохимия и микробиология 1998. Т. 34. № 3. С. 281-286.
7. *Сергиенко С.Р.* Высокомолекулярные соединения нефти. М.: Химия, 1964. 542 с.
8. *Давыдова С.Л.* Превращение нефти в биосфере // Энергия. 2006. Вып. 5. С. 53-58.
9. Правила технической эксплуатации нефтебаз. Утверждены приказом Минэнерго России от 19.06.2003 № 232.
10. *Лурье Ю.Ю.* Унифицированные методы анализа вод. М.: Химия, 1973. 376 с.
11. Практикум по микробиологии / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева. М., 2004. 254 с.
12. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Л.А. Сиренко, А.И. Сакевич, Л.Ф. Осипов и др. Киев: Наукова думка, 1975. 247 с.
13. *Голлербах М.М., Косинская Е.К., Полянский В.И.* Определитель пресноводных водорослей СССР. Синезеленые водоросли. Вып. 2. М.: Сов. наука, 1953. 651 с.

THE NATIVE MICROORGANISMS OF OIL HYDROCARBONS IS FOUNDATION OF ECOLOGICAL BIONECHNOLOGY

© 2011 A.R. Galperina

Astrakhan State Technical University, Astrakhan

In this article we adduced results investigation of hydrochemical and microbiological analysis of residual masout sewage was carried out. It was revealed that the native microflora takes active part in biodegradation of oil hydrocarbons. Injection of cyano-bacterial communities and water plants activates processes of self-cleaning of sewage from oil products. About this testify a decrease of total oil hydrocarbons – on 98%; optical density – on 71%.

Key words: native microflora, technogenic ecosystems, ecobiotechnology.