

К. А. Леонов, А. П. Асташкина, Т. А. Мостовская,
С. Ю. Гармонов

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ БИОРАЗЛОЖЕНИЯ НЕФРАСА

Ключевые слова: биопрепарат «МД», биоразложение, нефтепродукты, газовая хроматография.

Исследован процесс биодеструкции нефраса биопрепаратом «МД» с использованием метода газовой хроматографии. Установлены различия в скорости биодегградации различных классов углеводородов, входящих в состав нефраса. Наибольшая скорость биоразложения наблюдается у изопарафинов - 87% и нафтенов - 46%. Деструкция ароматических углеводородов начинается только на 6 сутки.

Keywords: biodegradation, oils, gas chromatography.

The process of biodegradation nefras biologic "MD" using gas chromatography has been investigated. The differences in the rate of biodegradation of the various classes of hydrocarbons has been obtained. The highest rate of biodegradation has been observed for isoalkanes - 87% and alkenes - 46%. The degradation of aromatic hydrocarbons has been begun after 6 hours.

Введение

Загрязнение природной среды нефтью и сопутствующими загрязнителями – актуальная экологическая проблема для нефтедобывающих регионов России [1-5]. В условиях функционирования нефтегазового комплекса, на различных его производственно-технологических стадиях (добыча и транспортировка нефти и газа) не исключены аварийные ситуации, приводящие к загрязнению окружающей среды углеводородами нефти, газового конденсата и продуктами их переработки. При попадании нефти и нефтепродуктов в почву и водную среду происходит изменение их физико-химических свойств, нарушается биохимическая трансформация веществ, изменяется структура биоценоза [2].

Для ликвидации основной массы нефтяного загрязнителя разработаны и применяются различные способы (механические, термические, физико-химические), которые, как правило, многоступенчатые, трудоемки и связаны с большими материальными затратами. Наиболее перспективным, экологически чистым и часто единственно возможным способом решения данных экологических проблем является применение биологических технологий, основанных на использовании микробных биопрепаратов, изготовленных из активной биомассы углеводородоокисляющих микроорганизмов [6,7]. Для таких микроорганизмов углеводороды являются естественным источником питания, поэтому в процессе жизнедеятельности они активно размножаются, потребляя загрязнения вплоть до их полного исчерпания [8].

В связи с этим актуальным является контроль процесса дегградации углеводородов различных нефтепродуктов при помощи биопрепаратов-нефтедеструкторов [8].

Крупнейшие нефтяные промыслы нашей страны расположены на территории Западной Сибири и Крайнего Севера, по этой причине был разработан биопрепарат «МД сухой» (Производство ООО «Экойл» г. Томск). В состав биопрепарата входят штаммы, обладающие высокой скоростью утилизации нефти и нефтепродуктов при низких температурах окружающей среды. Диапазон рабочих температур от

+5 до +37 °С. Но на сегодняшний день не изучено влияние биопрепарата на отдельные классы углеводородов, что является новизной данного исследования.

Целью работы является проведение хроматографического контроля деструкции нефти и нефтепродуктов препаратом «МД сухой», изучение зависимости изменения углеводородного состава нефтепродуктов в ходе биоразложения углеводородоокисляющих микроорганизмов препарата.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования был выбран Нефрас (производства ЗАО «Рязанская нефтеперерабатывающая компания»), ТУ 38-401-67-108-92. Нефрас представляет собой прозрачную маслянистую жидкость с характерным запахом керосина, представляющая собой узкую высококипящую фракцию бензина прямой перегонки при 80-120 °С.

В качестве биоразлагающего микробиологического препарата выбран комплексный биопрепарат «МД» (сухой) – биопрепарат содержит концентрат клеток (плотностью микроорганизмов не менее 10^8 КОЕ) микроорганизмов-деструкторов нефти и нефтепродуктов, нанесенный на органоминеральный носитель, в состав которого входят микроэлементы и стимуляторы роста микроорганизмов.

Для эксперимента готовили инокулят из биопрепарата «МД» (сухой). Для этого биопрепарат разводили в бидистиллированной воде в соотношении 1:20. Полученный инокулят в количестве 1 мл вносили в колбу на 200 см³, содержащую 50 см³ бидистиллированной воды с минеральными добавками и 2 см³ нефраса. В качестве минеральных добавок использовали KNO₃ - 0,2 г/л; KH₂PO₄ - 0,028 г/л; Na₂HPO₄ - 0,1 г/л; NaCl - 0,2 г/л; MgSO₄ - 0,02 г/л. Для доступа кислорода воздуха колбу закрыли ватно-марлевой пробкой. Для равномерного распределения компонентов среды колбу поместили на орбитальный термостатируемый шейкер, скорость оборотов 102 об/мин, температура 29 °С.

Контроль деструкции углеводородов осуществлялся методом газовой хроматографии на

приборе «Хроматэк-Кристалл 5000» (г. Йошкар-Ола). Тип испарителя капиллярный, температура испарителя 270 °С, режим работы – с выделением потока. В качестве сорбента использовали - полиметилсилоксан. Калибровка прибора производилась по стандартным образцам для определения состава нефтей. Объем пробы составил 0,2 мкл, пробоотбор анализируемой пробы производили через каждые 24 – 48 часов. Общее время анализа составило 500 ч.

Результаты хроматографического анализа компонентов опытных образцов были объединены по 5 основным группам углеводородов.

Обсуждение результатов

В ходе эксперимента установлено непрерывное уменьшение общего содержания углеводородов в смеси по экспоненциальному закону, что подтверждает постоянство процесса биоразложения и сохранение активности микроорганизмов. Через 300 ч в смеси углеводородов практически не остается (рис. 1, на графике не указано полностью время анализа).

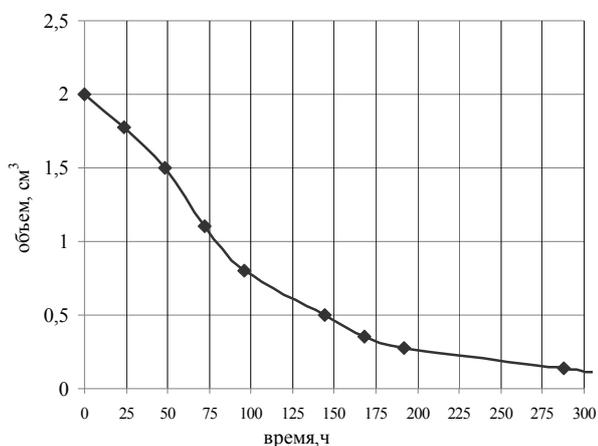


Рис 1 – Общее уменьшение количества углеводородов при биодеструкции нефраса биопрепаратом «МД» (сухой)

Анализ состава смеси по классам углеводородов показывает наличие существенных различий в скоростях их биодеструктивного окисления, а также наличие процессов ступенчатого окисления (рис. 2). Так, например, наибольшая скорость биодеструкции наблюдается у изопарафинов и несколько меньше у нафтенов. Причем к 24 часам анализа их количество в смеси уменьшается более чем в 5 и 3 раза, соответственно. Параллельно увеличивается количество парафинов, олефинов и ароматических углеводородов, по сравнению с исходным их количеством в нефрасе. Это можно объяснить тем, что эти классы углеводородов образуются за счет трансформации изопарафинов и/или парафинов под действием нефтеокисляющих микроорганизмов биопрепарата.

Таким образом, установлено, что наибольшей деструкции под влиянием биопрепарата подвергаются углеводороды класса парафинов изостроения и с более разветвленной структурой. Содержание изопарафинов в смеси через 24 часа уменьшилось на 87%, нафтенов –

на 46%. Деструкция ароматических углеводородов начинается только на 6 сутки.

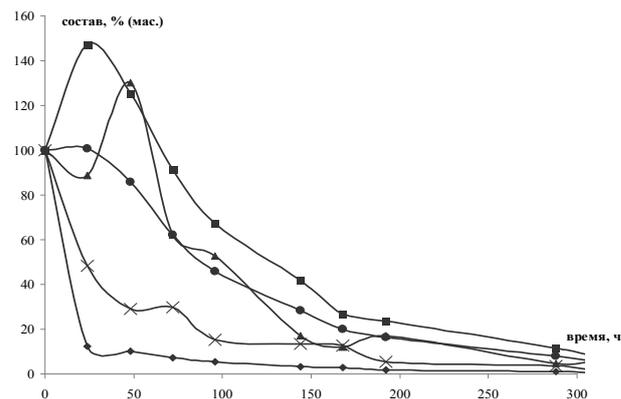


Рис 2 – Временная зависимость изменения процентного состава от начального состава по классам углеводородов: ● - парафины; ◆ - изопарафины; ▲ - ароматика; × - нафтены; ■ - олефины

С другой стороны, известно [9], что все углеводороды подвергаются биологическому разложению под действием микроорганизмов. Микробное окисление углеводородов нефти происходит через серию каталитических процессов с образованием промежуточных продуктов метаболизма – спиртов, альдегидов, кетонов, жирных и карбоновых кислот, которые в конечном итоге окисляются до углекислого газа.

Для выяснения вопросов механизма окислительной биодеструкции потребуется использование новых экспрессных методов определения метаболической (ферментной) активности микроорганизмов [10] одновременно с разработанным в данной работе хроматографическим способом контроля процесса биоразложения нефтепродуктов.

Работа выполнена при поддержке программы проведение поисковой научно-исследовательской работы в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013гг "Поддержка научных исследований, проводимых молодыми учеными - кандидатами наук по научному направлению «Науки о жизни (Живые системы)» № 14.В37.21.1510.

Литература

- [1] Другов Ю.С., Родин А.А. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов.– М.:БИНОМ, 2007. – С.250.
- [2] Колотилова Н.Н. Из истории исследований процессов разложения углеводородов нефти микроорганизмами // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – М., 2011. - №5. – С.27.
- [3] Парфурьева Е.Н., Пантелева Ю.В. Перспективы развития мирового нефтегазохимического комплекса // Вестник Казанского технологического университета. 2012. №12. С. 177-181.
- [4] Несмелов А.А., Григорьева Т.В., Хузаянов Р.Х., Смолко А.А., Мухаметишин И.Р., Никитина Е.В., Гицарева Е.В., Наумова Р.П. Подготовка содержащего углеводороды

- шлама к биологическому обезвреживанию // Вестник Казанского технологического университета. 2012. №14. С. 177-182.
- [5] *Мухтаров Я.С., Суфиянов Р.Ш.* Исследование процесса экстрагирования углеводородов из нефтезагрязненных грунтов // Вестник Казанского технологического университета. 2012. №14. С. 190-193.
- [6] *Рахматулина В.У., Семенова С.В., Шабунина Л.А.* Биоремедиация почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – М., 2009. - №2. – С.22-29.
- [7] *Башкин В.Н., Аконова Г.С., Листов Е.Л., Балакирев И.В., Галиулин Р.В., Галиулина Р.А.* Прогнозирование микробиологического очищения почвы от углеводородов газового конденсата и нефти // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – М., 2010. - №4. – С.20.
- [8] *Дзержинская И.С., Куликова И.Ю.* Микробиологические способы очистки водных поверхностей и прибрежной зоны от нефтяного загрязнения // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – М., 2008. - №4. – С.22-24.
- [9] *Бирюков В.В.* Основы промышленной биотехнологии. – М.: «КолосС», 2004.– 208 с.
- [10] *Асташкина А.П.* Автореф. дисс. канд. хим. наук, Томский политех. ун-т, Томск, 2011. 21 с.

© **К. А. Леонов** – студ. Национ. исслед. Томского политехн. ун-та; **А. П. Асташкина** – канд. хим. наук, доц. каф. физической и аналитической химии Национ. исслед. Томского политехн. ун-та, ara2004@mail.ru; **Т. А. Мостовская** – асп. той же кафедры; **С. Ю. Гармонов** – д-р хим. наук, проф. каф. аналитической химии, сертификации и менеджмента качества КНИТУ.