

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, многостадийны, 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 деградации 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 108 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; KН₂РO₄ - 0,028 г/л; Na₂НРO₄ - 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 °C. Контроль деструкции углеводородов осуществлялся методом газовой хроматографии на приборе «Хроматэк-Кристалл 5000» (г. Йошкар-Ола). Тип испарителя капиллярный, температура испарителя 270 °C, 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.