

МИКРОБИОЛОГИЯ ПОЧВ

УДК: 504.064

СРАВНЕНИЕ СТЕПЕНИ УТИЛИЗАЦИИ НЕФТИ В ПОЧВЕ СПОНТАННОЙ МИКРОФЛОРОЙ С ПРИРОДНЫМ И ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫМ ЦЕОЛИТОМ

У.Р. Идрисова¹, Д.Ж. Идрисова¹, Т.Б. Мусалдинов¹, О.Н. Ауэзова²,
И.Т. Мырзадаулетова¹, С.А. Айткельдиева², А.К. Саданов²

¹ТОО «Таза Су» г. Алматы, taza-su@mail.ru. ²РГП «Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК, imv_rk@list.ru

Проведенные модельные эксперименты показали, что цеолит стимулирует деструкционную способность аборигенной микрофлоры. Во всех вариантах модельного эксперимента внесение цеолита постепенно повышало уровень как каталазной, так и дегидрогеназной активности. Существенной разницы в значениях уровня активности этих ферментов в почве как с природным, так и с химически модифицированным цеолитом не отмечено. Определение убыли нефти в почве при этом показало, что химически модифицированный цеолит не имеет преимуществ перед природным аналогом.

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение почв нефтью приводит к глубокому изменению практически всех основных характеристик почвы и обуславливает потерю плодородия. Происходит отчуждение значительных площадей из регулярного землепользования, что сопровождается существенными потерями земельных ресурсов.

В связи с угрожающими размерами загрязнения почвенного покрова нефтью и нефтепродуктами разработка новых эффективных, экономически выгодных и экологически безопасных технологий очистки почвы имеет важное значение для поддержания экологического равновесия. Обширность нефтяных загрязнений почвенного покрова в регионах добычи нефти и длительный период их существования, наряду с известными методами очистки нефтезагрязненных почв, диктуют необходимость разработки высокоэффективных биотехнологических способов - биоремедиации, направленных на интенсификацию процессов микробиологической утилизации нефтяных загрязнений и агромелиоративных приёмов ремедиации. В последние годы повышенный интерес вызывает использование

цеолитов в биоремедиации нефтезагрязненной почвы. Природные цеолиты – перспективный материал для решения многих технологических и экологических задач [1,2]. Цеолитно-микробиологическая очистка почв и грунтов от загрязнений нефтью и нефтепродуктами не оказывает отрицательного воздействия на компоненты окружающей среды, так как цеолит экологически чистый, нетоксичный материал. Из литературных данных [3, 4] следует, что в промышленности часто используют модифицированный цеолит. Целью исследований было сравнение степени утилизации нефти в почве спонтанной микрофлорой под воздействием природного и химически модифицированного цеолита.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследований служила почва нефтегазового месторождения Кумколь Кызылординской области и цеолит Чанканайского месторождения с размером частиц до 2 мм.

Для постановки модельных экспериментов по изучению степени очистки нефтезагрязненных почв и влиянию цеолита на биологическую активность, чистую почву перед началом опыта растира-

ли и просеивали через сито (2 мм). Попутно удаляли посторонние примеси и корневые остатки. Эксперимент проводили в пластиковых сосудах, в которые вносили по 100 г почвы. Затем почва была искусственно загрязнена нефтью (в концентрации 5 и 10 %). Согласно схеме опыта в этот грунт был добавлен цеолит. Контролями служила чистая почва и почва загрязненная нефтью, но без цеолита. Опыт был проведен в 3-х кратной повторности.

Через 1 и 2 месяца определяли каталазную активность почвы на специальном приборе, устройство которого описано в [5]. Активность каталазы выражали в мл кислорода, выделившегося на 1 г почвы в течение 1 минуты.

Дегидрогеназную активность почвы определяли методом Ленарда, который основан на калориметрическом изменении формазана (ТТФ), образующегося в результате восстановления 2,3,5-триметилтетразолийхлорида (ТТХ). Количество формазана находили по калибровочной кривой, построенной по чистому формазану. Активность выражали в мг формазана на грамм почвы за сутки [6].

Убыль нефти в почвенных образцах определяли газожидкостным методом.

Модификацию цеолита проводили следующим образом: небольшие порции цеолита (фракция 2 мм) по 1-2 г прокаливали в течение 2 часов, затем помещали в насыщенный раствор аммиачной селитры и мочевины. Колбы с насыщенными растворами инкубировали в условиях магнитной мешалки при $t^{\circ}=80^{\circ}\text{C}$ около 12 часов. Затем цеолит высушивали. В модельном эксперименте модифицированный таким образом цеолит вносили согласно схеме из расчета 2,5; 5,0; 7,5 и 10,0 т/га.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведение модельных экспериментов с природным цеолитом и его модифи-

цированным аналогом показало, что внесение этого минерала в нефтезагрязненную почву способствует увеличению численности микрофлоры, особенно углеродородокисляющих микроорганизмов (УОМ) по отношению к контрольным образцам, куда цеолит не вносился. Численность микроорганизмов является индикатором токсичности внесенного поллютанта. Этот показатель чутко реагирует как на дозу поступившей в почву нефти, так и на ее вид. Как известно, ведущая роль в процессах очистки нефтезагрязненных почв принадлежит УОМ, их количество и активность в значительной мере отражает интенсивность процессов окисления нефти [7].

Эффективность очистки нефтезагрязненной почвы возможно контролировать не только путем химического анализа остаточного содержания нефти, но и биологическими методами, в числе которых может быть анализ активности ферментов, принимающих непосредственное участие в трансформации углеводородов нефти [8, 9].

В загрязненной нефтью почве изменяется интенсивность окислительно-восстановительных ферментативных процессов. С этими биохимическими процессами, происходящими при участии различных ферментов, связан окислительный распад остатков нефти в почве. У почвенных микроорганизмов важнейшими и широко распространенными деструкторами нефти являются ферменты каталаза и дегидрогеназа [10].

Уровни активности этих ферментов, отмеченные в модельном эксперименте, представлены в таблице 1.

Из данных таблицы видно, что при загрязнении почвы нефтью уровень активности каталазы резко снижается с 4,8 до 1,2 $\text{O}_2/\text{мин}/\text{г}$ при 5 % загрязнении и до 0,80 $\text{O}_2/\text{мин}/\text{г}$ при 10 % загрязнении. Внесение природного цеолита в почву с 5 %

Таблица 1 - Ферментативная активность почвенных образцов с 5 и 10 % содержанием нефти и различными дозами внесенного природного и модифицированного цеолита при фракции 2 мм через 1 и 2 месяца

Вариант	Каталаза, O ₂ /мин/г				Дегидрогеназа, мкг ТФФ/г/сут.			
	5 % нефти		10 % нефти		5 % нефти		10 % нефти	
	1 мес.	2 мес.	1 мес.	2 мес.	1 мес.	2 мес.	1 мес.	2 мес.
Контроль (чистая почва)	4,8				1,25			
Контроль (без цеолита)	1,2	1,3	0,8	1,0	0,46	0,50	0,20	0,22
природный цеолит								
Цеолит 2,5 т/га	1,6	2,0	1,0	1,6	0,61	0,64	0,25	0,28
Цеолит 5,0 т/га	2,6	3,6	1,0	2,2	0,72	0,80	0,24	0,41
Цеолит 7,5 т/га	2,7	3,8	1,2	2,4	0,87	0,94	0,20	0,44
Цеолит 10,0 т/га	2,9	4,0	1,6	2,8	0,92	0,96	0,32	0,50
цеолит с аммиачной селитрой								
Цеолит 2,5 т/га	2,2	2,4	1,4	1,6	0,60	0,62	0,30	0,48
Цеолит 5,0 т/га	3,1	3,5	1,9	3,2	0,68	0,90	0,39	0,54
Цеолит 7,5 т/га	3,1	3,8	2,0	3,3	0,80	0,90	0,44	0,60
Цеолит 10,0 т/га	3,4	4,1	2,2	3,3	0,82	0,91	0,42	0,56
цеолит с мочевиной								
Цеолит 2,5 т/га	2,4	2,5	2,0	2,4	0,51	0,56	0,30	0,40
Цеолит 5,0 т/га	2,8	3,0	3,4	3,2	0,55	0,59	0,46	0,48
Цеолит 7,5 т/га	3,0	3,2	2,8	3,2	0,58	0,60	0,48	0,48
Цеолит 10,0 т/га	3,2	4,0	2,9	3,2	0,52	0,59	0,32	0,50

нефтяным загрязнением повысило уровень каталазной активности через месяц от 1,6 O₂/мин/г до 2,9 O₂/мин/г в зависимости от дозы внесенного цеолита. Через 2 месяца наибольшая каталазная активность наблюдалась в варианте с максимальной дозой внесенного цеолита и достигала 4,0 O₂/мин/г. Такая же тенденция отмечена и для почвы с 10% загрязнением, однако, в этих почвах каталазная активность не превышала 2,8 O₂/мин/г. Значения каталазной активности при внесении модифицированного цеолита с аммиачной селитрой как при 5 %, так и при 10 % загрязнении через 1 месяц были несколько выше, чем с природным цеолитом, но уже через 2 месяца уровень каталазы был практически таким же. Тестирование почвы с цеолитом и мочевиной показало сходные результаты.

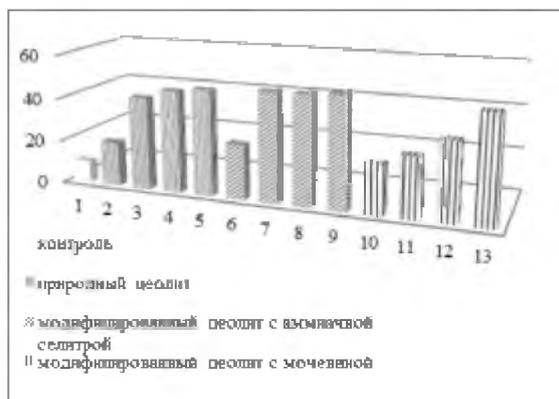
Такая же закономерность отмечена и при изучении дегидрогеназной активности почвенных образцов. В контрольном образце (чистая почва) уровень

дегидрогеназной активности составлял 1,25 мкг ТФФ/г/сут, внесение нефти снизило активность этого фермента до 0,46 мкг ТФФ/г/сут при 5 % и 0,20 мкг ТФФ/г/сут при 10 % загрязнении. Самый высокий уровень дегидрогеназной активности с 5 % нефтяным загрязнением после 1 месяца инкубации отмечен с природным цеолитом, а с 10 % - с модифицированным цеолитом и аммиачной селитрой. Во всех вариантах модельного эксперимента внесение цеолита постепенно повышало уровень как каталазной, так и дегидрогеназной активности. Отмечена корреляция между увеличением активности этих ферментов и дозой вносимого в почву цеолита. Уровень активности этих ферментов в почве, так же как и численность углеводородокисляющих микроорганизмов, является определенным критерием состояния почвы в отношении ее самоочищающей способности от нефтяных ингредиентов [11].

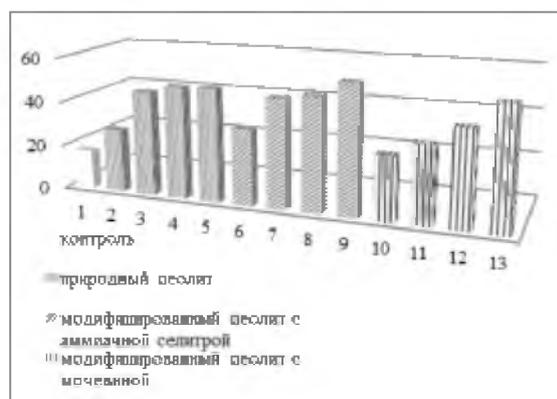
Наиболее показательным тестом по самоочищению почвы от нефти является химическое определение убыли нефти в почвенных образцах. Деструкционную активность аборигенной микрофлоры

выражали в процентах утилизируемой нефти от ее первоначальной концентрации.

На рисунке 1 показана убыль нефти через 1 и 2 месяца в почвенных образцах с природным и модифицированным цеолитом



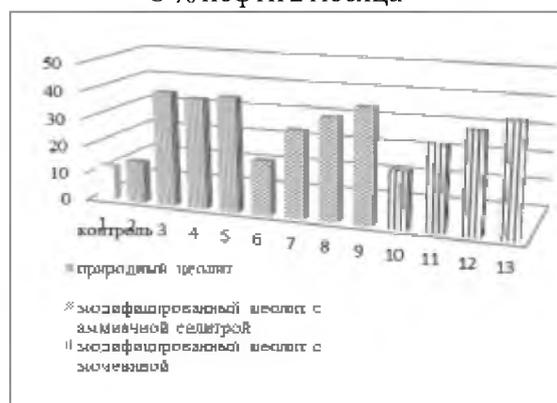
5 % нефти 1 месяц



5 % нефти 2 месяца



10 % нефти 1 месяц



10 % нефти 2 месяца

Рисунок 1 - Степень утилизации 5 % и 10 % нефти в почве с природным и модифицированным цеолитом через 1 и 2 месяца.

Примечание: 1 - контроль, 2 - цеолит 2,5 т/га, 3 - цеолит 5,0 т/га, 4 - цеолит 7,5 т/га, 5 - цеолит 10,0 т/га, 6 - цеолит 2,5 т/га + NH_4NO_3 , 7 - цеолит 5,0 т/га + NH_4NO_3 , 8 - цеолит 7,5 т/га + NH_4NO_3 , 9 - цеолит 10,0 т/га + NH_4NO_3 , 10 - цеолит 2,5 т/га + $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, 11 - цеолит 5,0 т/га + $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, 12 - цеолит 7,5 т/га + $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, 13 - цеолит 10,0 т/га + $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$

том с 5 % нефти на фоне контроля, куда цеолит не вносили. Как видно, через 1 месяц экспозиции при дозе внесенного цеолита 2,5 т/га убыль нефти была минимальной во всех почвенных образцах и составила от 20,5 до 25,4 %. С увеличением дозы вносимого цеолита, как природного, так и химически измененного, деструкционная способность спонтанной микрофлоры возрастает. Отмечено, что при внесении природного цеолита и его

модифицированного аналога с аммиачной селитрой, значения утилизации нефти примерно равнозначны и составляют от 42,6 до 50,8 %. Внесение цеолита с мочевиной, в тех же дозах, не вызвало увеличения деструкционной активности, за исключением дозы 10,0 т/га, где утилизация нефти составила 48,7 %. Через 2 месяца инкубации с 5 % нефти наблюдалась аналогичная картина. Самая значительная убыль нефти с 10 % нефтяным загряз-

нением через 1 и 2 месяца по отношению к контрольным почвенным образцам отмечена при внесении природного цеолита в дозах 5,0; 7,5 и 10,0 т/га. Доля утилизации нефти через 1 месяц при этом составляла от 32,7 до 38,0 %. Только внесение максимальной дозы цеолита (10,0 т/га), как с аммиачной селитрой, так и с мочевиной, приближало очистку почвы от нефти к этим значениям.

Через 2 месяца экспозиции самый лучший эффект по очистке почвы отмечен так же с природным цеолитом и в тех же дозах. Он составил от 39,4 до 40,9 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные модельные эксперименты показали, что цеолит

стимулирует деструкционную способность аборигенной микрофлоры. Во всех вариантах модельного эксперимента внесение цеолита постепенно повышало уровень как каталазной, так и дегидрогеназной активности. Существенной разницы в значениях уровня активности этих ферментов в почве как с природным, так и с химически модифицированным цеолитом не отмечено. Определение убыли нефти в почве при этом показало, что химически модифицированный цеолит не имеет преимуществ перед природным аналогом. При биоремедиации нефтезагрязненных почв экономически более оправданным будет использование природного, а не модифицированного цеолита.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Терещенко Н.Н., Лушников С.В., Бубина А.Б. Цеолиты и нефтяные загрязнения почвы // Энергия: Экономика, техника, экология. 2007. №1. С. 24-30.
2. Коновалова Е.В. Влияние цеолитов и фитомелиоранта на агроэкологические показатели нефтезагрязненных почв в криоаридных условиях Забайкалья. Дисс. на соис. ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук. Улан-Удэ. 2009. 142 с.
3. Челищев Н.Ф. Ионообменные свойства природных высококремнистых цеолитов. М.: Наука. 1988. 128 с.
4. Поляков В.Е., Тарасевич Ю.И., Медведев М.И. Ионообменная сорбция аммония и калия клиноптилолитом и разработка технологии их извлечения из сточных вод // Химия и технология воды. 1979. Т.1. № 2. С.19-24.
5. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. Изд-во МГУ 1991. С. 59-75.
6. Башкин В.Н., Калинина И.Е., Галиулин Р.В., Галиулина Р.А. Диагностика углеводородного загрязнения почвы и ее биоремедиации посредством анализа активности дегидрогеназы // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2009. №6. С. 4-7.
7. Идрисова У. Р., Идрисова Д. Ж., Мусалдинов Т. Б., Ауэзова О. Н., Мырзадаулетова И.Т. Курманбаев А. А., Айткельдиева С. А. Определение оптимальной дозы и фракции цеолита для увеличения активности микрофлоры нефтезагрязненной почвы // Микробиология және вирусология. 2013. №1. С. 21-31.
8. Baran S. Bielinsko J.E., Oleazezuk P. Enzymatic activity in an airfield soil polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons // Geoderma. 2004. Vol. 118. P. 221-232.
9. Voopathy R. Factors limiting bioremediation technologies // Bioresur. Technol. 2000. Vol.74. P. 63-67.
10. Башкин В.Н., Калинина И.Е., Галиулин Р.В., Галиулина Р.А. Экспресс-диагностика углеводородного загрязнения почвы и ее биоремедиации посредством анализа каталазы // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2009. №7. С. 4-7.

11. Biederbeck V.O., Zenter R.P, Cambell C.A. Soil microbial populations and activities as influenced by legume green fallow in a semiarid climate // Soil. Biol. Bioch. 2005. Vol. 37. P. 1775-1784.

ТҮЙІН

Жүргізілген модельді тәжірибелер цеолиттің аборигендік микрофлоралардың ыдырату қабілетін жылдамдататынын көрсетті. Модельдік тәжірибенің барлық нұсқаларында цеолитті енгізу әрекеті каталазалық және дегидрогеназалық белсенділік деңгейін біртіндеп арттырады. Табиғи да, химиялық жетілдірілген цеолитпен де топырақтағы осы ферменттердің белсенділік деңгейінің мәндерінде елеулі айырмашылық байқалмады. Топырақтағы мұнайдың азаюын анықтауда химиялық жетілдірілген цеолиттің табиғи цеолиттен басымдылығы жоқтығын көрсетті.

SUMMARY

Conducted simulation experiments showed that the zeolite promotes destructive capacity of the indigenous microflora. In all variants of the model experiment making zeolite gradually increased as the level of catalase and gehydrogenase activity. No significant difference in the values of the level of activity of these enzymes in the soil so as to natural and chemically modified zeolite was not observed. Determination of loss of oil in the soil thus showed that the chemically – modified zeolite has no advantages over the natural analogue.