

А. Х. Сафаров (к.т.н., доц.), Л. Р. Акчурина (к.т.н., доц.),
Г. Г. Ягафарова (д.т.н., проф., зав. каф.)

ИЗУЧЕНИЕ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КОМПОНЕНТОВ ТЯЖЕЛОЙ НЕФТИ

Уфимский государственный нефтяной технический университет,
кафедра прикладной экологии
450044, г. Уфа, ул. Космонавтов, д. 1; e-mail: Akchurina_lr@mail.ru

A. Kh. Safarov, L. R. Akchurina, G. G. Yagafarova

STUDY OF BIOTRANSFORMATION OF HEAVY OIL COMPONENTS

Ufa State Petroleum Technological University
1, Kosmonavtov Street, Ufa, 450044, Russia; e-mail: Akchurina_lr@mail.ru

Работа посвящена актуальной проблеме защиты окружающей среды от негативного воздействия предприятий нефтепромышленного комплекса, в частности в работе представлены результаты исследования процесса биологической очистки грунтов, загрязненных тяжелой нефтью с использованием консорциума аборигенных нефтедеструктурирующих микроорганизмов (АНМО). Показано, что применение консорциума АНМО обеспечивает высокую степень биоочистки нефтесорбированных грунтов. Анализ фракционного состава исходной и биодegradированной нефти показал, что АНМО способны использовать в качестве источника углерода и энергии не только алканы, нафтены и ароматические соединения, но и более тяжелые фракции, такие как смолы и асфальтены.

Ключевые слова: аборигенные нефтедеструктурирующие микроорганизмы; ароматические и полиароматические соединения; асфальтены; биотрансформация; микробиологический состав; смолы; тяжелая нефть.

В настоящее время, в связи с постепенным истощением уже разведанных нефтяных месторождений, все более востребованными становятся вязкие и сверхвязкие тяжелые нефти. Несовершенство технологий добычи, транспортировки, переработки и хранения нефти неизбежно приводит к ее потерям, и как следствие к негативному влиянию на человека и окружающую природную среду ¹.

Битумы и тяжелые нефти характеризуются высоким содержанием асфальто-смолистых соединений, ароматических углеводородов,

The article focuses on actual problem of protecting the environment from the negative impact of oil industry. In particular, the paper presents the results of the study of the biological purification of soils contaminated with heavy oil using a consortium of indigenous oil destructing microorganisms (ANMO). It is shown that the use of the consortium ANMO provides a high degree of bioremediation of oil-contaminated soils. Analysis of the fractional composition of the original and biodegraded oil showed that ANMOs are able to use not only alkanes, naphthenes and aromatics as carbon and energy sources, but also heavier fractions, such as resins and asphaltenes.

Key words: aromatic and polyaromatic compounds; asphaltenes; biotransformation; heavy oil; indigenous microbiological composition; petrodestructive microorganisms; resins.

высокими показателями вязкости и плотности, высокой концентрацией металлов и сернистых соединений, повышенной коксуетемостью. Наиболее устойчивыми к различного рода воздействиям являются асфальто-смолистые вещества, содержание которых в нефти может достигать до 30% мас. Особую группу составляют ароматические и полиароматические соединения в виду их повышенной токсичности.

Из многочисленных современных методов, которые позволяют снизить концентрацию нефти в экосистемах, наиболее перспективными являются биологические методы, основанные на естественных процессах разложе-

Дата поступления 13.02.19

ния нефти в природных средах, участие в которых принимает углеводородокисляющая микрофлора: бактерии, микроскопические грибы и дрожжи. Биологические способы очистки основаны на использовании микроорганизмов, способных использовать компоненты нефти в качестве единственного источника углерода. Это обеспечивает снижение концентрации нефти до фоновых значений при невысоких эксплуатационных затратах и простоте реализации. Однако многие биопрепараты, содержащие в своем составе один или несколько активных нефтедеструктирующих штаммов, зачастую, бывают, малоэффективны в вопросах ремедиации грунтов, загрязненных тяжелой нефтью и нефтешламов. Решением данной проблемы может стать биотехнологический способ, основанный на применении активированных аборигенных нефтедеструктирующих микроорганизмов (АНМ). Данный метод предполагает предварительную активацию и наработку суспензии АНМ, с последующей ее интродукцией в нефтезагрязненные среды ².

Высокая эффективность биотехнологий с применением АНМ во многом объясняется большим видовым разнообразием последних, что в свою очередь обусловлено высокой конкуренцией и большим количеством путей деградации различных фракций нефти. Микроорганизмы обладают свойством избирательного отношения к разным углеводородам; эта способность объясняется различием в структуре углеводов, а также числом углеродных атомов, составляющих эту структуру. В природных условиях микроорганизмы образуют консорциумы, составляя единую цепь биокисления углеводов нефти. Каждый из микроорганизмов консорциума, обладая специфическими ферментными системами, направленными на использование определенного субстрата (как самих углеводов, так и их производных) использует данный субстрат в своем метаболизме. Поэтому при совместном воздействии микроорганизмов консорциума происходит деградация, как большего количества, так и более широкого спектра нефтяных углеводов.

Целью проведенного исследования было изучение и анализ путей биотрансформации тяжелой нефти и ее отдельных компонентов, в частности, ароматических и полиароматических соединений, а также смол и асфальтенов консорциумом АНМ.

Материалы и методы

Для исследования использовали сверхвязкую высокосернистую нефть Нижне-Кармальского месторождения (республика Татарстан) (плотность 0.953 г/см³; вязкость при 20 °С — до 1136 мПа·с).

В качестве биопрепарата использовали консорциум АНМ, полученный из образцов нефтезагрязненных грунтов, отобранных также на территории Нижне-Кармальского месторождения.

Наработку суспензии АНМ проводили по следующей схеме:

- отбор образцов НГ на месте загрязнения;
- внесение отобранных образцов, с присутствующими в них АНМ, в специально подобранную жидкую ПС;
- наработка необходимого количества суспензии АНМ с титром клеток не менее 108–109 кл/мл в ферментере.

Поскольку эффективность процесса биодеструкции нефти напрямую зависит от качественных и количественных показателей микробиоценоза нефтезагрязненных сред, начальным этапом работы было исследование микробиологического состава почво-грунтов, загрязненных тяжелой нефтью. Общую численность органотрофных микроорганизмов определяли путем высева на агаризованные среды. Предварительную идентификацию присутствующих в образцах микроорганизмов осуществляли по культурально-морфологическим и физиолого-биохимическим признакам, используя «Определитель бактерий Берджи». Определение культуральных, морфологических и физиолого-биохимических свойств культур проводили по стандартным методикам ³.

Следующим этапом работы было изучение и анализ путей биотрансформации компонентов тяжелой нефти аборигенной нефтеокисляющей микрофлорой. С этой целью было проведено исследование фракционного состава исходной и биодеградированной тяжелой нефти.

Для проведения эксперимента в полную минеральную среду ³ вносили вышеуказанную нефть из расчета 1% мас. Консорциум АНМ добавляли в среду в количестве 4% об. Культивирование проводили в термостатированной качалке при температуре 25 °С. Для оценки результатов биодеструкции пробы отбирали через 15 и 30 сут.

Анализ фракционного состава исследованных проб проводили в аккредитованной лаборатории на базе АО «Институт нефтехимпереработки» РБ. Исследования проводили

методом жидкостно-адсорбционной хроматографии на хроматографе «Градиент-М» на стеклянных колонках $L=30$ см, $d=1.2-1.4$ мм, заполненных модифицированным силикагелем АСК с детектором по теплопроводности, с использованием в качестве элюентов сложных смесей растворителей с градиентно-вытеснительным режимом подачи.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования микробиологического состава грунтов, загрязненных тяжелой нефтью показали, что для таких сред более характерно присутствие бактерий родов *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*; микромицетов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*; дрожжей *Candida*, *Rhodotorula*.

Результаты исследования фракционного состава исходной и биodeградированной нефти представлены на рис. 1.

Как видно из рис. 1, наиболее полно и быстро биотрансформации подвергаются алканы и нафтены. При этом циклоалканы поддаются биологическому разложению труднее алканов, что, по-видимому, объясняется присутствием цикла, который окисляется сложнее, чем молекулы с линейной структурой.

Достаточно тяжело идут процессы биотрансформации ароматических и полиароматических соединений. Степень их биодеструкции за 30 сут составила 98.7; 97.6 и 73.3 % для

легкой, средней и тяжелой ароматики соответственно. При этом большим катаболическим потенциалом в отношении ароматических и полиароматических углеводородов обладают бактерии рода *Pseudomonas*, *Rhodococcus* и *Arthrobacter*. Они способны полностью деградировать или частично биотрансформировать такие соединения, как бензол и его гомологи, нафталин, фенантрен, флуорен и др. ⁴.

Микробиологическое биоокисление смол и асфальтенов идет крайне медленно и происходит, по видимому, с глубокими изменениям их структурно-групповых характеристик. При этом происходит частичное разрушение насыщенных (алифатических и нафтеновых) участков и, частично, ароматических колец, содержащих гетероатомы ⁵. Степень биодеструкции асфальто-смолистых соединений за 30 сут составила чуть менее 50%.

Подводя итог вышесказанному, можно заключить, что ассоциация аборигенных нефтеокисляющих микроорганизмов в результате биохимического окисления нефти разрушает не только алканы, цикланы, но и ароматические УВ, а также тяжелые фракции – смолы и асфальтены, относящиеся к трудно утилизируемым компонентам нефти.

Таким образом, биотехнология, основанная на применении аборигенных нефтеокисляющих микроорганизмов, является достаточно перспективной в вопросах рекультивации грунтов, загрязненных тяжелой нефтью и нефтешламам.

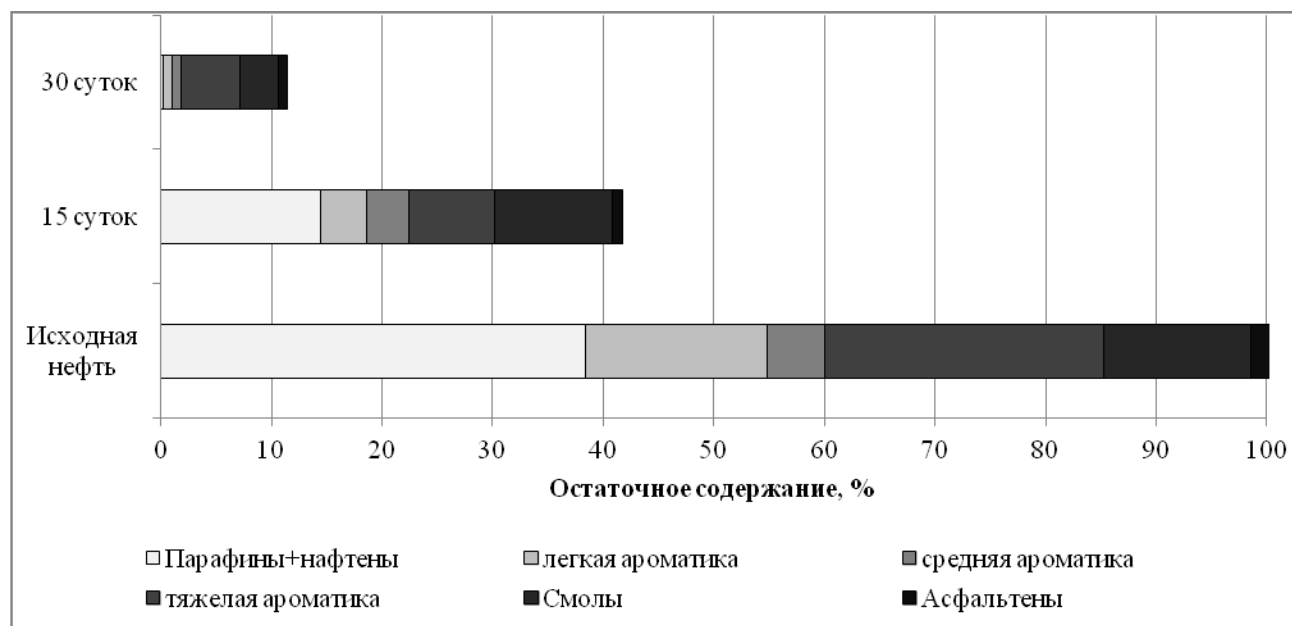


Рис. 1. Фракционный состав исходной и биodeградированной тяжелой нефти

Литература

1. Ягафарова Г.Г., Мазитова А.К., Леонтьева С.В., Сафаров А.Х., Вахитова Д.Р. Биоремедиация грунтов, загрязненных тяжелой нефтью // SOCARProceedings. – 2016. – №3. – С.75-80.
2. Ягафарова Г.Г., Леонтьева С.В., Гросберг Я.И., Сафаров А.Х., Ягафаров И.Р. Способ очистки нефтезагрязненных земель путем использования аборигенных нефтеокисляющих микроорганизмов // Экология и промышленность России. – 2010. – №12. – С.20-21.
3. Герхардт Ф. Методы общей бактериологии. – М.: Мир, 1983.
4. Ягафарова Г.Г., Атнагулова Л.Р., Маллябаева М.И., Хакимов Л.Ю., Тюмкина Т.В. Исследование биодеструкции полиароматических соединений // Баш. хим. ж. – 2014. – Т.21, №2. – С.129-133.
5. Филатов Д.А., Кривцов Е.Б., Свириденко Н.Н., Головки А.К., Алтунина Л.К. Биогенное окисление высоковязкой нефти Ашальчинского месторождения и ее гетероорганических соединений // Нефтехимия. – 2017. – Т.57, №4. – С.386-393.

References

1. Yagafarova G.G., Mazitova A.K., Leonteva S.V., Safarov A.H., Vakhitova D.R. *Bioremediatsiya gruntov, zagryaznennykh tyazheloy neftyu* [Bioremediation of heavy oil-contaminated soils]. SOCARProceedings, 2016, no.3, pp.75-80.
2. Yagafarova G.G., Leonteva S.V., Grosberg J.I., Safarov A.H., Yagafarov I.R. *Sposob ochistki neftezagrjznennykh zemel putem ispolzovaniya aborigennykh nefteokisljajuschikh mikroorganizmov* [Method of purification of oil-contaminated land through the use of indigenous oil-oxidizing microorganisms]. *Ekologiya i promyshlennost Rossii* [Ecology and Industry of Russia], 2010, no.12, pp.20-21.
3. Gerhardt F. *Metody obshchey bakteriologii* [Methods of general bacteriology]. Moscow, Mir Publ., 1983.
4. Yagafarova G.G., Atnagulova L.R., Mallyabaeva M.I., Khakimov L.Yu., Tyumkina T.V. *Issledovanie biodestruktsii poliaromaticeskikh soedinenii* [Study of biodegradation of polyaromatic compounds]. *Bashkirskii khimicheskii zhurnal* [Bashkir chemical journal], 2011, vol.18, no.2, pp.72-74.
5. Filatov D. A., Krivtsov E. B., Sviridenko N.N., Golovko A.K., Altunina L.K. *Biogennoe okislenie vysokovyazkoi nefti ashalchinskogo mestorozhdeniya i ee geteroorganicheskikh soedinenii* [Biogenic oxidation of high-viscosity oil of Ashalchinskoye field and its heteroorganic compounds]. *Neftekhimiya* [Petroleum Chemistry], 2017, vol.57, no.4, pp.386-393.