

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ РЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕШЛАМОВ, СОДЕРЖАЩИХ ПРИРОДНЫЕ РАДИОНУКЛИДЫ*Гумерова Р.Х., Мамаева Е.В., Айзатова А.А., Гильмуллина А.Р.**ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,
420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д.18;**e-mail: gumerovar88@mail.ru**поступила в редакцию 27 ноября 2013 года***Аннотация**

Представлены результаты лабораторного моделирования ремедиации отхода, содержащего нефтепродукты (640 г/кг) и природные радионуклиды (Ra^{226} , Th^{232} и K^{40}), методами ландфарминга, биостимуляции и биоаугментации. Установлено, что ландфарминг и биостимуляция обеспечивают снижение концентрации нефтепродуктов и фитотоксичности отхода.

Ключевые слова: биоаугментация, биоремедиация, биостимуляция, нефтесодержащие отходы.

Введение. Процесс добычи и переработки нефти сопровождается образованием отходов, количество которых может достигать 0,2-0,5% от полученной товарной нефти [1,2]. Эти отходы помимо большого количества тяжелой нефти содержат природные радиоактивные элементы естественных радиоактивных семейств U^{238} и Th^{232} , а также K^{40} , которые осаждаются из водо-нефтяной эмульсии в виде баритов [3,4]. Нефтяные компоненты представлены смесью гидрофобных компонентов, многие из которых способны вызывать токсичные и мутагенные эффекты [5]. В настоящее время остается наиболее распространенной практика депонирования нефтесодержащих отходов в специальных накопителях или размещение на почве. Сложность обращения с подобными отходами определяется многообразием их видов и состава, высокой опасностью. Физико-химические методы обработки нефтесодержащих отходов являются дорогостоящими, энергоемкими и сопряжены с образованием вторичных отходов, захоронение которых представляет дополнительную проблему [2,6]. В связи с этим активно развиваются направления, использующие биологические методы.

Таким образом, цель настоящего исследования являлось лабораторное моделирование процесса ремедиации отходов нефтедобывающего комплекса.

Основная часть. Методы.

Объектом исследования служил отход, отобранный в резервуаре Тихоновского товарного парка (Альметьевск, Татарстан). Характеристики отхода следующие: углеводороды (УВ) – 640 г/кг, содержание ^{228}Ra – 859,0±199,0 Бк/кг, ^{232}Th – 385,1±77,0 Бк/кг, ^{40}K – 272,0±40,8 Бк/кг. Для моделирования процесса ремедиации использовали почву со следующими характеристиками: $\text{C}_{\text{орг}}$ – 6,6%, $\text{N}_{\text{общ}}$ – 2860 мг/кг, механический состав: глина – 17%, песок – 29%, прочие – 54%, содержание нефтепродуктов – 362 мг/кг, содержание ^{226}Ra – 14,4±3 Бк/кг, ^{232}Th – 21,9±4 Бк/кг и ^{40}K – 328,7±32 Бк/кг. Почву отбирали из слоя 0-20 см, доставляли в лабораторию, тщательно перемешивали, удаляли остатки растений и корни вручную и просеивали через сито с размером ячеек 8 мм.

Компост получали из органической фракции твердых бытовых отходов, осадка сточных вод и опилок в лабораторных условиях. Эксперименты по определению оптимальной схемы обезвреживания проводили следующим образом. Для этого были сформированы следующие смеси: отходы вносили в почву в соотношении 1:4 (образец ОП); отходы вносили в почву в соотношении 1:4 и добавляли компост в количестве 5% по массе (образец ОПК); в отходы вносили компост в количестве 5% по массе (образец ОК); в отходы вносили почву в соотношении 1:4, добавляли компост в количестве 5% по массе и вносили смесь двух штаммов микроорганизмов-деструкторов в количестве 250 мл на 1 кг отхода (образец

ОПКМ); в отходы вносили компост в количестве 5% и смесь двух штаммов микроорганизмов-деструкторов в количестве 250 мл на 1 кг отхода (образец ОКМ). В качестве контроля использовали отход без внесения добавок (образец О) и почву без внесения добавок (образец П). В каждой из смесей довели соотношение C:N мочевиной до 10:1.

Смесь двух штаммов микроорганизмов-деструкторов в соотношении 1:1 получали следующим образом. Индивидуальные штаммы бактерии выращивали на минеральной среде, отделяли центрифугированием и ресуспендировали до конечной концентрации 10^7 КОЕ/мл.

В сосуды помещали по 3 кг смесей, увлажняли до 60% от общей влагоемкости и инкубировали при комнатной температуре (22 °С). Отбор проб в эксперименте производили на 0, 7, 14, 21, 35, 49, 80 и 123 сутки инкубирования и измеряли содержание углеводов (УВ), активность радиоактивных элементов (РЭ), микробную биомассу ($C_{\text{мик}}$), респираторную активность. Фитотоксичность смесей определяли на 0, 14, 35, 80 и 123 сутки инкубирования.

Измерение массовой доли нефтепродуктов в исследуемых образцах проводили методом ИК-спектрометрии (ПНД Ф 16.1:2.2.22-98, 1998). Измерение активности радиоактивных элементов проводили методом гамма-спектрометрии, согласно [7]. Определение фитотоксичности проб осуществляли контактным методом, согласно ISO 11269-2. В качестве тест-объектов использовали подсолнечник (*Helianthus annuus*).

Бактериальные штаммы изолировали из отхода методом накопительной культуры. Для этого 1 г отхода помещали в 100 мл солевой среды (г/л: KH_2PO_4 – 3,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ – 4,5; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 1,0) и инкубировали при температуре 28 °С в течение 7 суток. В 4 пассаже вместо осадка использовали сырую нефть (5%). Индивидуальные колонии получали высевом на чашки с агаризованной солевой средой нефтью. Колонии пересеивали на плотную питательную среду и проверяли на способность разлагать углеводороды нефти. Два штамма (GR-1 и GR-2), проявившие наибольшую активность идентифицировали и использовали в экспериментах.

Результаты и их обсуждение.

На первом этапе был охарактеризован отход, который использовали для анализа биодegradации углеводов. Влажность отхода составила 12%, pH – 7,24. В отходе присутствовали нефтяные компоненты в количестве 640 ± 94 г/кг, что соизмеримо со значениями, представленными в литературе [2,8].

Анализ природных РЭ, входящих в состав отхода выявил, что доминирующим элементом является Ra^{226} , активная концентрация которого составляла в отходе – 859 ± 110 Бк/кг. В меньших количествах присутствовали Th^{232} и K^{40} – 385 ± 64 и 272 ± 44 Бк/кг, соответственно. Данные об изменении содержания нефтепродуктов представлен на рис. 1.

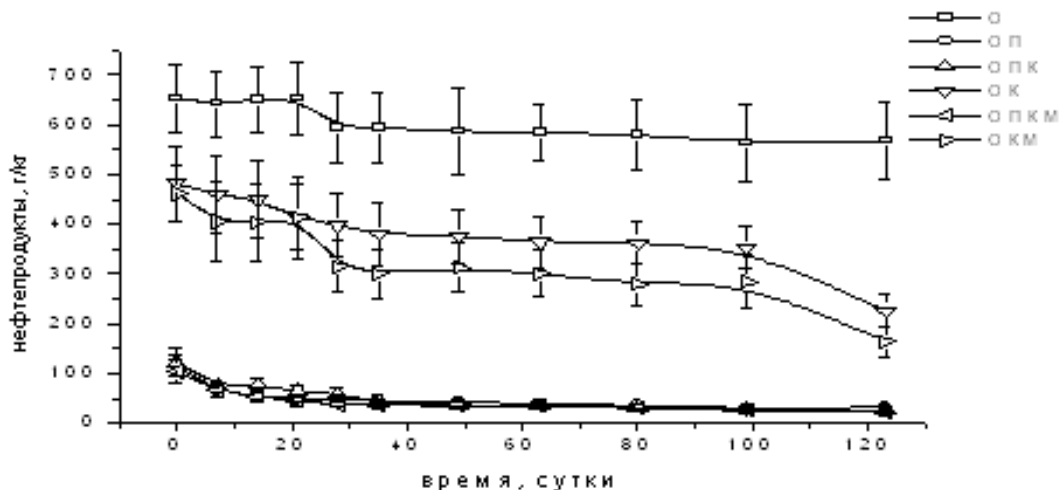


Рисунок 1. – Изменение содержания нефтепродуктов при ремедиации отхода.

Как видно из полученных результатов при смешивании отхода с почвой наблюдается существенное снижение нефтепродуктов в 5,3-6,3 раза. Внесение компоста в количестве 5% (варианты ОК и ОКМ) приводит к незначительному снижению содержания нефтепродуктов. В течение первых 35 суток в вариантах ОП, ОПК, ОПКМ происходит снижение нефтепродуктов на 58, 66 и 65%, соответственно. К 120 суткам культивирования выявлено снижение содержания нефтепродуктов на 72, 79 и 79%, соответственно, в вариантах ОП, ОПК и ОПКМ. Меньшее снижение нефтепродуктов наблюдается в вариантах ОК и ОКМ, составившее 53 и 65% соответственно. В варианте О снижение содержания нефтепродуктов составляет 12%.

В литературе представлены данные о снижении нефтепродуктов в образцах с их высоким содержанием, которые в целом согласуются с полученными нами результатами. Так, при смешивании отходов с почвой, навозом, опилками, стружкой и применением приемов биоаугментации снижение углеводов составляет 62-70% за 150 суток при начальном содержании 2,4 г/кг [9], 81,9% за 140 суток при начальном содержании 13,724 г/кг [10]; 56-59% за 90 суток при начальном содержании 250-300 г/кг.

Результаты анализа содержания РЭ (^{226}Ra , ^{232}Th и ^{40}K) в пробах исходных смесей и пробах, отобранных в конце 120 суток инкубирования, представлены на рисунке 2.

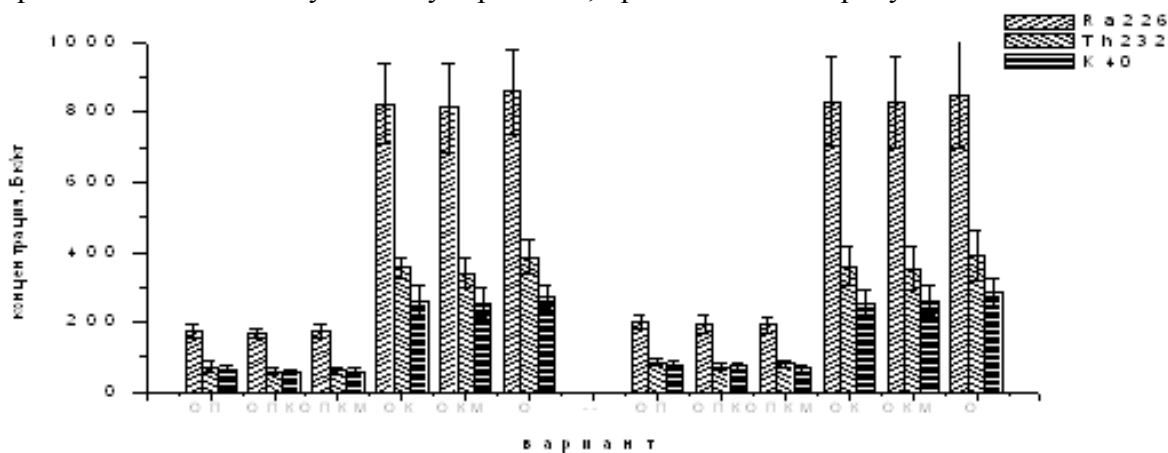


Рисунок 2. – Содержание радиоактивных элементов в отходе на 1 и 120 сутки инкубирования.

Установлено увеличение их содержания в среднем в 1,1 раза по сравнению с исходным содержанием, что связано с их концентрированием за счет минерализации органического вещества. Аналогичное явление установлено для металлов, концентрация которых увеличивается в компостных кучах при минерализации органического вещества. Исключение составляет вариант О, в котором не наблюдается изменения содержания радиоактивных элементов. В этом же варианте отмечается минимальная биodeградация углеводов. В литературе представлены данные о том, что доза от 40 Гр до 50 кГр, рассчитанная на основании концентрации ^{226}Ra , оказывает негативный эффект на микроорганизмы. В нашем исследовании такая доза, определенная с использованием модели R&D128 (Terrestrial model), составляет 0,5 Гр, что существенно ниже значения, вызывающего негативный эффект. Это позволяет считать, что основным фактором, определяющим эффекты отхода на микробные сообщества, является содержание нефтепродуктов. В процессе инкубирования смесей с отходом также были определены изменения уровня $S_{\text{мик}}$, респираторной активности и численности гетеротрофов и углеводородокисляющих микроорганизмов. Как видно из данных, представленных на рисунке 3, отход характеризуется низкой $S_{\text{мик}}$, уровень которой незначительно изменяется в течение эксперимента и составляет 16-80 мг/кг. Микробная биомасса почвы варьируется на уровне 91-374 мг/кг. В варианте ОП уровень микробной биомассы существенно не отличался от такового в варианте П. В то же время при внесении в смесь компоста и инокуляция смеси микроорганизмами (варианты ОПК и ОПКМ) привело к увеличению микробной биомассы в 1,3-2 раза, соответственно, по сравнению с почвой. В процессе ремедиации, как в почве, так

и в смесях с отходом отмечены флуктуирующие изменения $C_{\text{мик}}$, причем к концу эксперимента различия между ними становятся менее существенными. Увеличение микробной биомассы при рекультивации почвы, загрязненной нефтью, в дозах 5-10% было отмечено и другими авторами [9].

Сравнение уровня $C_{\text{мик}}$ в вариантах О, ОК и ОКМ показывает, что обработка отхода компостом и микроорганизмами приводит к увеличению $C_{\text{мик}}$. Скорее всего, это связано с тем, что компост оказывал структурирующее воздействие, обеспечивая благоприятные условия для развития аэробных микроорганизмов. В то же время, высокое начальное содержание нефтепродуктов в этих вариантах обусловило более низкий уровень $C_{\text{мик}}$ по сравнению с остальными вариантами.

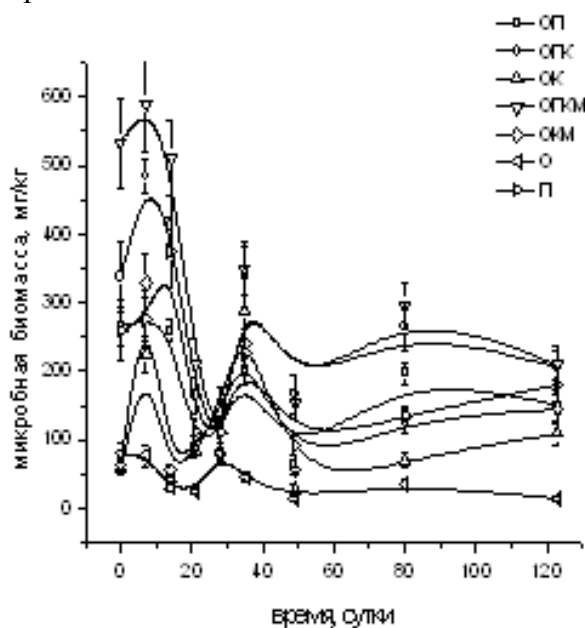


Рисунок 3. – Изменение микробной биомассы при ремедиации отхода.

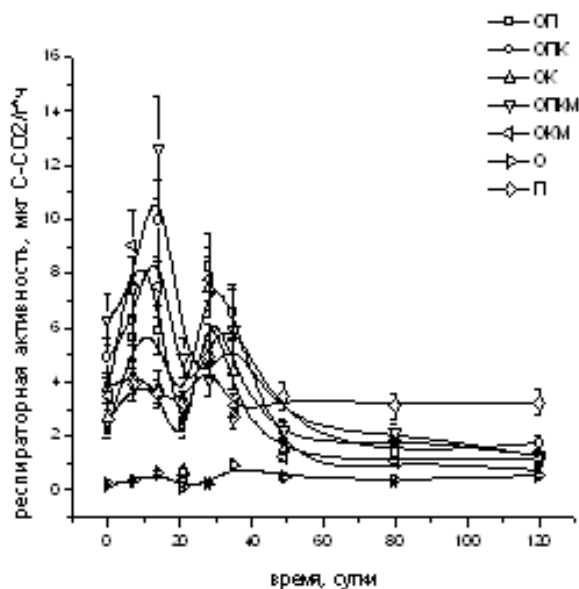


Рисунок 4. – Изменение респираторной активности при ремедиации отхода НТ1.

Как видно из рисунка 4, отход характеризуется низкой респираторной активностью, уровень которой незначительно изменяется в течение эксперимента (0,15-0,93 мкг С-СО₂/г·ч). Респираторная активность почвы варьируется на уровне 2,58-4,93 мкг С-СО₂/г·ч. На 14 сутки инкубирования наблюдается увеличение респираторной активности в образцах ОП, ОПК, ОПКМ в 1,7, 2,8 и 3,5 раза, соответственно, по сравнению с образцом П. В дальнейшем происходит снижение активности с повторным ее повышением на 35 сутки. Далее уровень

респирации стабилизируется. Сравнение уровня респираторной активности в вариантах ОК и ОКМ показывает, что внесение в отход компоста и микроорганизмов приводит к увеличению респираторной активности в 2-30 раз по сравнению с вариантом О в течение всего эксперимента. Следует отметить, что в вариантах смесей с добавлением микроорганизмов (ОПКМ, ОКМ) респираторная активность выше по сравнению с вариантами без внесения бактерий (ОПК, ОК). Скорее всего, высокий уровень респираторной активности в первые сутки эксперимента связан с деградацией микроорганизмами наиболее легко разлагаемых фракций углеводов. Снижение интенсивности дыхания указывает на замедление процессов минерализации углеводов, в связи с уменьшением легко разлагаемых фракций нефти.

Для оценки токсичности продуктов разложения углеводов в процессе ремедиации отхода НТ1 использовали тест на всхожесть семян подсолнечника *Helianthus annuus*.

На рисунке 5 представлены результаты определения фитотоксичности смесей с отходом НТ1. Как видно из представленных данных, на протяжении всего периода исследования почва не оказывает негативного влияния на всхожесть семян *Helianthus annuus*: ингибирование всхожести семян варьируется от 10 до 17%. В то же время при тестировании отхода, который подвергается только перемешиванию (вариант О) обнаружен 100%-ный ингибирующий эффект. В процессе ремедиации происходит снижение уровня фитотоксичности. Так, в вариантах ОП, ОПК и ОПКМ фитотоксичность снижалась со 100% в начале эксперимента до 32, 28 и 29%, соответственно, к 135 суткам эксперимента. В вариантах ОК и ОКМ, которые характеризовались более высоким начальным содержанием нефтепродуктов (459 и 405 г/кг) выявлено существенно меньшее снижение фитотоксичности. Во-первых, в течение первого месяца отсутствует всхожесть семян, во-вторых, к концу эксперимента фитотоксичность составляет 67 и 54%. Полученные результаты свидетельствуют о том, что за четыре месяца в вариантах ОК и ОКМ ремедиация не завершилась. По уровню фитотоксичности, установленной к концу эксперимента, смеси могут быть расположены в следующий ряд О>ОК>ОКМ>ОП>ОПК=ОПКМ. Во всех вариантах опыта обнаружено немонокотное снижение уровня фитотоксичности.

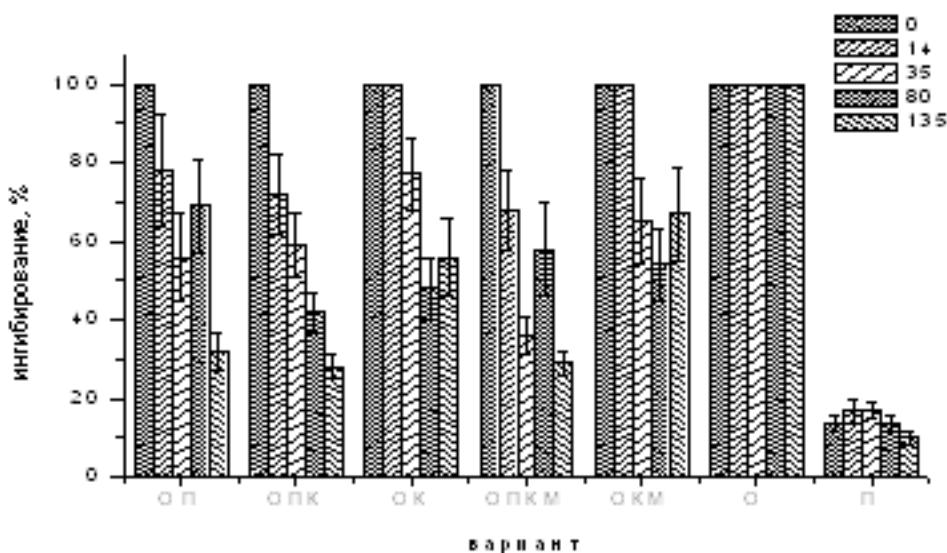


Рисунок 5. – Изменение фитотоксичности в процессе ремедиации отхода НТ1.

Заключение. Установлено, что способы биоремедиации ландфарминг и биостимуляция обеспечивают снижение нефтепродуктов и фитотоксичности отхода. Инокуляция смесей выделенными микроорганизмами-деструкторами нефти (*B. thuringiensis* и *B. pumilus*) эффективна при высоком содержании нефтепродуктов (461, 481 г/кг) и не оказывает влияния при их начальном содержании 120 г/кг.

Список литературы

- 1) Lazar I., Dobrota S. Microbial degradation of waste hydrocarbons oily sludge from some Romanian oil fields // *Journal of Petroleum Science and Engineering*. 1999. V.22. P.151-160.
- 2) Ouyang W., Liu H. Comparison of bio-augmentation and composting for remediation of oily sludge: A field-scale study in China // *Process Biochemistry*. 2005. V.40. P.3763-3768.
- 3) El Afifi E.M., Awwad N.S. Characterization of the TE-NORM waste associated with oil and natural gas production in Abu Rudeis, Egypt // *Journal of Environmental Radioactivity*. 2005. V.82. P.7-19.
- 4) Bakr W.F. Assessment of the radiological impact of oil refining industry // *Journal of Environmental Radioactivity*. 2010. V.101. P.237-243.
- 5) Солнцева Н.М. Общие закономерности трансформации почв в районах добычи нефти // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. Сб. науч. трудов. М.: Наука, 1988. С.23-42.
- 6) Das K., Mukherjee A.K. Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India *Bioresource Technology*. 2007. N98. P.1339-1345.
- 7) Методика измерения активности радионуклидов с использованием сцинтилляционного гамма-спектрометра с программным обеспечением «Прогресс». М.: ГП «ВНИИФТРИ», 2003. 30 с.
- 8) Tahhan R.A, Abu-Ateih R.Y. Biodegradation of petroleum industry oily-sludge using Jordanian oil refinery contaminated soil // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2009. V.63. P.1054-1060.
- 9) Joergensen R.G., Schmaedeke F. Biomass and activity of microorganisms in a fuel oil contaminated soil // *Soil Biology and Biochemistry*. 1995. V.27. P.1137-1143.
- 10) Grace Liu P.W., Chang T.C. Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil: Effects of strategies and microbial community shift // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2011. V.65. P.1119-1127.