

ISSN 0203-4646

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ



22
—
1986

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЗАГРЯЗНЕНИЯ МОРЯ

УДК 551.46.09

А. А. ЛЕБЕДЬ

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ НА ПРОЦЕССЫ ОКИСЛЕНИЯ НЕФТИ

Основная роль в трансформации углеводородов нефти принадлежит микроорганизмам, способным использовать нефть и нефтепродукты в качестве единственного источника углерода и энергии. Однако скорость окисления нефти бактериями зависит от многих факторов. В работе [2] показано влияние на скорость биodeградации нефти температуры, удельной площади поверхности водного зеркала, рН среды, а также концентрации биогенных солей и внесенной биомассы нефтеокисляющих микроорганизмов. Как указывают авторы статьи [2], изучение процесса биodeградации нефти и нефтепродуктов в морской воде в замкнутых объемах, а также интерпретация полученных данных представляют большие трудности в связи со сложностью взаимосвязей, которые возникают между изучаемыми факторами и теми, которые возникают в ходе эксперимента. Последние иногда могут оказывать существенное влияние на изучаемый процесс.

В этой связи нами изучалась адаптация микроорганизмов в накопительной и монокультуре к потреблению нефтяного субстрата и биodeградационная способность при одиночном или совместном росте на углеводородных источниках, а также скорость окисления нефти в зависимости от ее физического состояния.

Проведены многомесячные наблюдения за изменением скорости адаптации микроорганизмов к углеводородам нефти. С этой целью накопительную культуру углеводородокисляющих микроорганизмов, выделенную из морской воды Севастопольской бухты, засевали по 1 мл в пробирки с жидкой минеральной средой под нефть. Затем в течение нескольких месяцев через каждые семь дней проводили последовательные пассажи микроорганизмов из одной пробирки в другую и следили за нарастанием биомассы. Установлено, что за первый месяц рост бактерий отмечен на четвертые сутки, максимум прироста биомассы приходился на седьмые сутки. Через полтора месяца эти показатели несколько изменились: рост клеток отмечался на третьи сутки, а максимальное количество биомассы нарастало на пятые. При дальнейших длительных пересевах время адаптации микроорганизмов к нефтяным углеводородам не уменьшилось.

Определено, что на пятые сутки не только нарастает основная масса бактериальных клеток, но за это же время окисляется и максимальное количество нефти (табл. 1). В опытах¹ использовали биомассу накопительной культуры, которую вносили в жидкую минеральную среду в количестве 3,4 мг/л на сухую массу [3] с добавлением 0,9 г/л сырой нефти. Через пять суток при перемешивании на качалке количество нефти уменьшилось на порядок и почти в семь раз увеличилась биомасса микроорганизмов. Через десять суток эти показатели изменились незначительно (по сравнению с пятью сутками).

¹ Здесь и далее все опыты проводили в двухлитровых колбах с объемом среды 1 л.

Подобные результаты получены при использовании в опытах монокультуры 30 сз наиболее активной черноморской формы, которую вносили из расчета 2 г/л сырой массы и 12 мг/л нефти (количество нефти и биомассу приблизили к условиям опытно-промышленной установки). Данные массового анализа нефти приведены в табл. 2, откуда видно, что за первые сутки нефть окислилась на 11,6%, на третьи — до 21,4, а на пятые — процент достиг максимума — 33,4. Полученные результаты подтверждают положение, высказанное в статье Ю. П. Копытова с соавт. [2], что смешанные культуры бактерий полнее и быстрее, чем монокультура, утилизирует нефтяные углеводороды. Следует также отметить, что внесение большого количества клеток микроорганизмов играет положительную роль в условиях протока, но в замкнутом объеме происходит накопление продуктов метаболизма и, как следствие, ухудшение процесса окисления нефти.

Некоторые авторы [1] утверждают, что если углеводородоокисляющие микроорганизмы попадают в среду с обилием легкоусвояемой органики, в дальнейшем они теряют способность окислять углеводороды

Таблица 2. Изменения массы нефти, мг

Время	Контроль	Опыт	Разница между контролем и опытом	Биодegradация, %
12 ч	12,4	11,35	1,05	8,5
24 ч	11,3	10,0	1,30	11,6
36 ч	11,5	10,45	1,05	8,5
3 сут	11,0	8,65	2,35	21,4
5 сут	11,7	7,8	3,0	33,4

нефти. Для уточнения этого высказывания нами проведены опыты, в которых использовали накопительную культуру углеводородоокисляющих микроорганизмов, выращенную на жидкой среде с углеводородами и на РПА в чашках Петри. Нефть применяли в двух состояниях: в виде тонкой пленки на поверхности среды и в эмульсии. Эмульсию получали следующим образом: к 1 л среды добавляли 1 мл нефти и перемешивали 5 мин электромешалкой, делающей 5 тыс. об/мин, отстаивали 2 сут в делительной воронке и отделяли эмульсию от всплывшей на поверхность нефти. Таким образом, получали мелкие частицы нефти, равномерно распределенные в толще среды. Исходное количество нефти в опыте практически одинаково (табл. 3), исходная биомасса составляла 3 мг/л на сухую массу. Из данных табл. 3 следует, что независимо от того, на каком субстрате наращивали биомассу, количество окисленной ею нефти практически одинаково в каждом из вариантов. Разница состояла только в том, что эмульгированная нефть несколько хуже окислялась микроорганизмами, чем нефть, находящаяся на поверхности в виде пленки. Подобные выводы находим в работе Митчелла [4], где указывается, что образование водонефтяной эмульсии препятствует поступлению питательных веществ для развития бактерий, что снижает скорость биораспада. Следует, однако, отметить, что при длительном хранении в условиях музея (на косом агаре под стерильным вазелиновым маслом) некоторые культуры теряют способность окислять нефть [5].

Таблица 3. Массовые изменения биомассы микроорганизмов и нефти в эксперименте за 7 сут

Условия опыта	Биомасса, мг/л	Количество нефти, мг/л	
		в эмульсии	в среде нефти,
Исходное	3,0	5,05	5,10
Биомасса с агара	20,0	2,29	1,74
Биомасса с жидкой среды	19,3	28,1	1,83

В целях изучения влияния дополнительной органики на процессы окисления нефти в экспериментах использовали городские бытовые сточные воды, взятые после механической очистки. Их добавляли к морской воде с эмульгированной нефтью (эмульсию готовили по описанной выше методике) в количестве 10, 30, 50%. Процессы деструкции нефти проходили только при участии микрофлоры морской воды и сточных вод, дополнительно биомассу бактерий не вносили. Контролем служила морская вода с эмульгированной нефтью. Результаты опыта показали, что при добавлении 10% сточных вод за 7 сут нефти уменьшилось на 2,9% больше, чем в контроле; при добавлении 30% сточных вод — на 14,2 и 50% — на 38,7% соответственно. По-видимому, здесь имеют место процессы соокисления.

Таким образом, целесообразно отметить, что биомасса углеводород-окисляющих бактерий в замкнутом объеме нарастает на пятые сутки, за это же время окисляется и максимальное количество нефти. При выращивании углеводородоокисляющих бактерий на неуглеводородных субстратах (РПА) они не теряют способности окислять углеводороды. Полученные результаты согласуются с данными, приведенными в работах [2, 4], что утилизация нефтяных углеводородов быстрее проходит при участии накопительной культуры в сравнении с монокультурой, а пленочная нефть лучше окисляется, чем эмульгированная. При добавлении бытовых сточных вод к морской воде происходят процессы соокисления.

Все изученные факторы имеют важное значение при изучении процессов самоочищения нефтесодержащих морских вод, а также в условиях очистных сооружений при использовании гидробиологического метода очистки.

1. Дивавин И. А., Копытов Ю. П. Исследование некоторых биохимических аспектов биodeградации углеводородов морскими микроорганизмами в условиях комбинированных загрязнений. — В кн.: Проблемы охраны морской среды, Калининград, 18 окт. 1977 г.: Тез. докл. Всесоюз. совещ. Калининград: Кн. изд-во, 1977, с. 31—33.
2. Копытов Ю. П., Миронов О. Г., Цуканов А. В. Влияние некоторых экофакторов на самоочищение морской воды от нефти. — Вод. ресурсы, 1982, № 2, с. 129—136.
3. Мейнелл Дж., Мейнелл Э. Экспериментальная микробиология. — М.: Мир, 1967. — 347 с.
4. Микробиология загрязненных вод. — М.: Медицина, 1976. — 319 с.
5. Миронов О. Г. Нефтеокисляющие микроорганизмы в море. — Киев: Наук. думка, 1971. — 226 с.

Ин-т биологии юж. морей
им. А. О. Ковалевского АН УССР, Севастополь

Получено 13.04.83

STUDIES IN INFLUENCE OF CERTAIN FACTORS
ON PROCESSES OF OIL OXIDATION

Summary

The biomass of hydrocarbon-oxidizing microorganisms is observed to increase on the fifth day and during further long-term reinoculations the time of its adaptation to oil hydrocarbons remains unchanged. The maximal quantity of oil oxidizes for the same period of time. It is established that while growing biomass of the hydrocarbon-oxidizing microorganisms on Petri dishes with fish-and-peptone agar, it does not lose its ability to oxidize hydrocarbons. Accumulative culture of bacteria utilizes more rapidly and fully hydrocarbons as compared with a monoculture, and film oil is oxidized by microorganisms better than emulsified oil. The addition of residential waters to sea water as a complementary organics evoked the co-oxidation processes.

УДК 551.46.09:628:62—634.2.(26)

Ю. П. КОПЫТОВ, А. Ш. АХМЕТОВ

МЕТОДЫ И НЕКОТОРЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ
ТЕМПЕРАТУРЫ, ДИСПЕРГИРОВАНИЯ
И КОНЦЕНТРАЦИИ НЕФТИ НА СКОРОСТЬ
САМООЧИЩЕНИЯ МОРСКОЙ ВОДЫ

Нефть и нефтепродукты относятся к числу наиболее распространенных и вредных веществ, загрязняющих моря и океаны. Загрязнение вод происходит неравномерно и сосредоточено в основном в прибрежных водах крупных промышленных центров и в устьях рек, а также в районах интенсивного судоходства и нефтедобычи. Дальнейшее распределение загрязняющих веществ в пространстве определяется особенностями циркуляции вод, турбулентным перемешиванием, физико-химическими свойствами самой нефти и нефтепродуктов, а также самоочищающей способностью морских вод. Для прогнозирования нефти, попавшей в море, необходимо знать скорость ее биохимического окисления, а также влияние на нее различных экологических факторов среды.

В своей работе мы остановились на изучении характера влияния температуры, степени диспергирования нефти и ее концентрации на самоочищающую способность морской воды от нефтяных углеводородов.

Исследованию воздействия температуры на процесс биоокисления нефти посвящено множество работ. По общему мнению, температура воды является одним из наиболее значимых факторов и оказывает существенное влияние на интенсивность процесса. Однако данные, приведенные в работах [6, 7, 13], позволяют предположить, что не всегда температура определяет скорость микробиальной деструкции углеводородов и что характер ее влияния неоднозначен и может меняться во времени.

Согласно [2, 4, 5], процесс нефтеокисления в морской воде описывается уравнением мономолекулярной реакции первого порядка. Отсюда следует, что в определенных пределах начальная концентрация играет существенную роль в кинетике деструкции нефти. Имеющиеся данные по этому вопросу несколько противоречивы [4, 8, 9, 14], получены в разных условиях и требуют дальнейшего изучения.

Поскольку истинная растворимость большинства нефтяных углеводородов в воде очень мала (10^{-4} — 10^{-6} мг/л и менее) [11], то трансформация нефти в основном происходит по механизму гетерогенного окисления. Поэтому диспергирование нефти приводит к увеличению площади контакта реагирующих масс и тем самым оказывает значительное влияние на скорость биодegradации [4, 8, 13, 14].