

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ, ОБРАБОТАННОЙ БИОПРЕПАРАТОМ «БИОРОС»

Сазонова Ирина Александровна

студент РГУ нефти и газа им. И.М. Губкина, РФ, г. Москва

Смирнова Татьяна Сергеевна

канд. техн. наук, РГУ нефти и газа им. И.М. Губкина, РФ, г. Москва

STUDY OF CHANGES IN THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF OIL-CONTAMINATED SOIL TREATED WITH BIOLOGICAL PRODUCT "BIOROS"

Irina Sazonova

Student, Gubkin Russian State University, Russia, Moscow

Tatiana Smirnova

Cand. Tech. Sciences, Gubkin Russian State University, Russia, Moscow

Аннотация. Пробы почвы были загрязнены нефтью с Чаяндинского месторождения. В процессе исследования была изучена эффективность биопрепарата «БИОРОС» по показателю изменения биологической активности нефтезагрязненной почвы. Наблюдения проводились три раза в течении эксперимента. По полученным результатам можно сделать вывод о том, что биологическая активность нефтезагрязненных почв увеличивается при применении биопрепарата «БИОРОС».

Abstract. Soil samples were contaminated with oil from the Chayandinskoye field. In the course of the study, the effectiveness of THE bioros biological product was studied in terms of changes in the biological activity of oil-contaminated soil. Observations were made three times during the experiment. Based on the results obtained, it can be concluded that the biological activity of oil-contaminated soils increases with the use of BIOROS.

Ключевые слова: биопрепарат; углеводородокисляющие микроорганизмы; ферментативная активность почвы; каталаза; дегидрогеназа.

Keywords: biological product; hydrocarbon-oxidizing microorganisms; soil enzymatic activity; catalase; dehydrogenase..

Введение

Нефтяное загрязнение вызывает резкое ухудшение состояния природных объектов. В процессе выполнения различного вида работ загрязняются такие природные объекты, как водная среда и почва. На атмосферный воздух также происходит воздействие за счет улетучивания углеводородов, однако в меньшей степени.

Согласно статистическим данным, приведенным в государственных докладах [1,2], а также в ежегоднике [3] в Российской Федерации нефтяное загрязнение почв в основном происходит за счет порывов трубопроводов. Однако, стоит отметить, что с каждым годом количество порывов трубопроводов в Российской Федерации снижается, а также снижается площадь загрязненных земель. Стоит отметить, что биологический метод рекультивации набирает всё большую популярность, так как является эффективным при малых концентрациях загрязнения, а также не имеет негативного влияния на природные объекты в сравнении с другими методами очистки нефтезагрязненных земель.

Биологическая активность – один из важнейших параметров, характеризующих почву.

Весомый вклад в показатели биологической активности вносят микроорганизмы, так как они выступают в качестве источника почвенных ферментов. Также необходимо определять ферментативную активность почв, так как она позволяет определять активность микроорганизмов, населяющих почву. [4] Стоит отметить, что загрязнение почв уменьшает ее ферментативную активность, поэтому биодиагностика загрязненности почв, которая основана на определении ферментативной активности, позволяет определить загрязнение на ранних стадиях, являясь при этом точным и нетрудоемким процессом. [5]

В работе определялись активности дегидрогеназы и каталазы три раза в течение всего эксперимента: через 3 дня, через 33 дня и через 65 дней после внесения биопрепарата «БИОРОС» с целью контроля очистки почвы от нефтяного загрязнения.

Материалы и методы

Расчет массы внесения биопрепарата был произведен в соответствии с инструкцией по применению биопрепарата «БИОРОС» [6]. Количество требуемого биопрепарата составило 1% от массы загрязнителя.

Расчет массы внесения удобрений также был произведен в соответствии с инструкцией по применению биопрепарата «БИОРОС» [6].

Результаты расчета приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Подготовка проб почвы для анализа

Номер пробы	Масса почвы, г	Концентрация нефти, %	Масса нефти, г	Масса биопрепарата, г	Масса удобрения, г	Количество почвы, г
1	380	0	0	0	0	2
2	380	3	11,4	0	0	2
3	380	5	19	0	0	2
4	380	10	38	0	0	2
5	380	3	11,4	0.114	2.99	2
6	380	5	19	0.190	4.98	2
7	380	10	38	0.380	9.98	2

Доза внесения биопрепарата была определена в соответствии с техническими условиями на данный биопрепарат.

Суммарное количество загрязнителя составляет 136.8 г. Необходимое количество биопрепарата «БИОРОС» для постановки эксперимента составляет 1,368 г.

Для сравнения были подготовлены 4 пробы почвы с концентрацией нефти 3%, 5%, 10% и фоновый образец почвы без загрязнителя.

Пробоподготовка была проведена по ГОСТ 17.4.4.02-84.

Количество почвы для проведения испытаний составляет 5.32 кг.

Почва была отобрана с частной территории, которая находится по адресу: г. Москва, поселение Первомайское, деревня Рогозинино, Троицкий автономный округ.

Затем почва была загрязнена нефтью с Чаяндинского месторождения.

Характеристика нефти данного месторождения приведена в таблице 2. Таблица составлена согласно данным в источнике [7].

Таблица 2.

Характеристика нефти Чаяндинского месторождения

Параметр	Значение
Плотность	862.8 – 882.4 кг/м ³
Содержание парафинов	3.35 – 5.04 масс. %
Содержание смол силикагелевых	13.5 – 15.7 масс. %
Содержание серы	0.71 – 0.81 масс. %
Содержание метановых УВ	68.7 – 68.9 масс. %
Содержание нефтяных УВ	15.2 – 18.0 масс. %
Содержание ароматических УВ	13.3 – 15.9 масс. %
Температура застывания	От – 39 С до – 34 °С

Длительность исследования составила 2 месяца.

Внесение удобрений осуществлялось равными порциями в течение всего периода проведения испытаний. Первое внесение удобрения проводили через 4-5 дней после начала проведения эксперимента и затем повторяли каждые 14 дней.

Количество раствора минеральных удобрений, вносимых в почву, составило:

- для образцов с концентрацией 30 г/кг - 15 мл;
- для образцов с концентрацией 50 г/кг - 15 мл;
- для образцов с концентрацией 100 г/кг - 25 мл.

Методика определения активности дегидрогеназ

Материалы и оборудование:

- Почва сухая (1 г)

- Почва влажная (в зависимости от влажности)
- Раствор ТТХ 0,5% (1 мл)
- Термостат
- Ацетон (7,5 мл)
- ФЭК
- Кюветы (5 или 1 мм)

Ход работы:

Дегидрогеназы выполняют роль катализаторов в реакциях отщепления водорода, то есть дегидрирования органических веществ, выполняя роль переносчиков водорода.

Активность фермента дегидрогеназы проводилась с помощью колориметрии на ФЭК.

Эксперимент проводился три раза в течение всего исследования в трех повторениях.

Методика определения активности каталаз

Определение активности каталазы производилось по методу Хазиева.

В эксперименте использовался прибор Хазиева, который показан на рисунке 1.

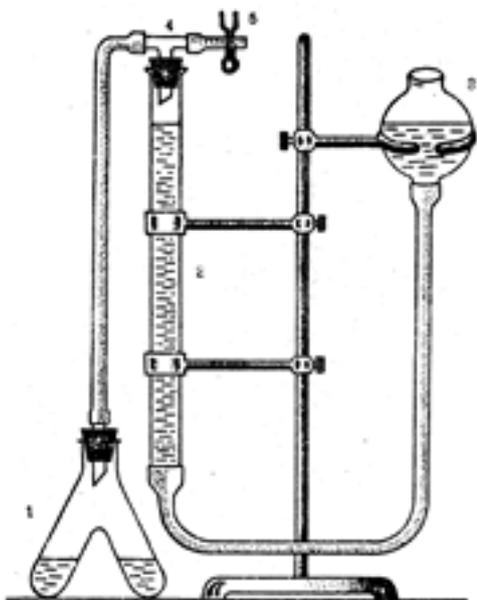


Рисунок 1 -Прибор Хазиева для анализа активности каталазы:

1 - каталазник; 2 - бюретка на 100 мл; 3 - стеклянная груша; 4 - стеклянный тройник; 5 - зажим Мора

Результаты и выводы

Определение активности дегидрогеназ

Результаты исследования приведены в таблице 3. В таблице приведены средние значения

Таблица 5.

Результаты расчета АД в начале эксперимента

Концентрация загрязнителя, %	Значение АД, мг/мл
Первый опыт	
3	0.678
5	0.240
10	0.309
Второй опыт	
3	1.135
5	1.081
10	1.413
Третий опыт	
3	1.179
5	1.271
Концентрация загрязнителя, %	Значение АД, мг/мл
10	1.455

Для сравнения также была определена активность фермента дегидрогеназы чистой почвы. Она составила 0.841 мг/мл.

По результатам эксперименты были построены графики изменения активности фермента дегидрогеназы. Графики приведены на рисунке 2.

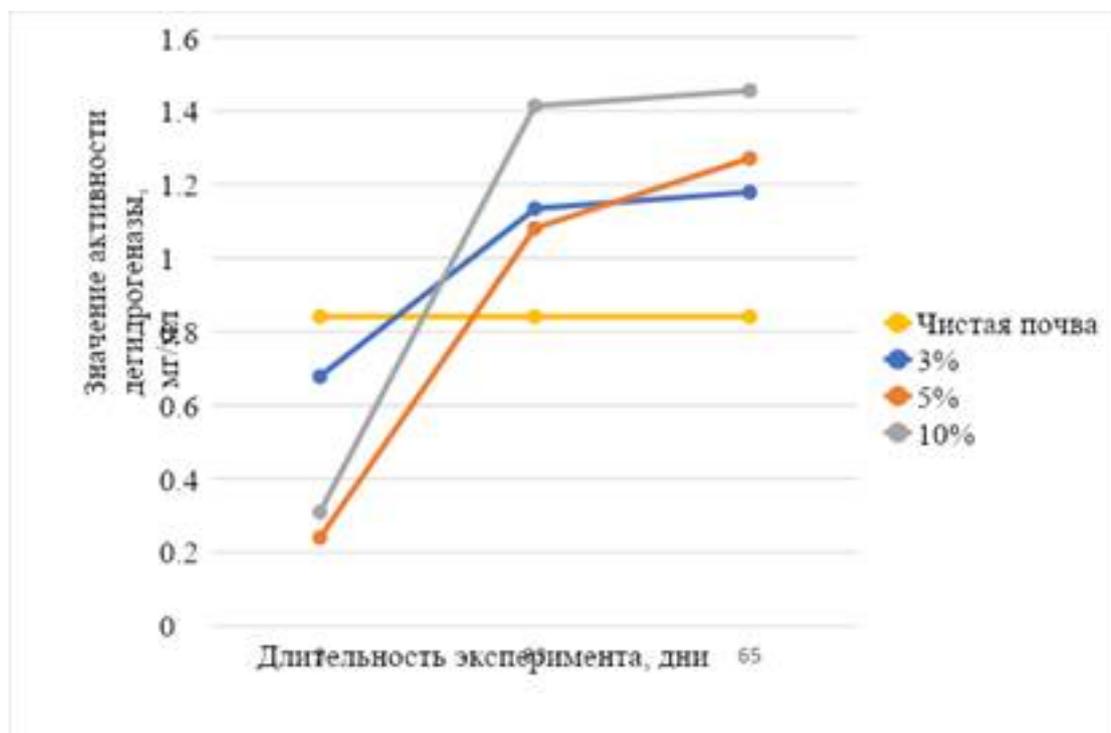


Рисунок 2. Графики изменения активности фермента дегидрогеназы

На построенных графиках видно, что через три дня после внесения биопрепарата активность фермента трех загрязненных образцов стала значительно ниже, чем активность фермента в чистой почве.

Спустя 33 дня после внесения биопрепарата значение активности фермента дегидрогеназы увеличилось и показатели стали выше показателей в чистой почве.

За последующие 32 дня активность дегидрогеназы также увеличилась.

По низким начальным показателям активности фермента дегидрогеназы можно сделать вывод о том, что образцы почвы были загрязнены нефтью, так как нефтяное загрязнение ингибирует активность фермента. [5]

По дальнейшему увеличению активности можно сделать вывод о том, что концентрация загрязнителя уменьшилась по сравнению с исходными значениями.

Определение активности каталаз

Результаты определения активности каталаз приведены в таблице 6.

Таблица 6.

Результаты определения активности фермента каталазы

Концентрация нефти, %	Активность каталазы, мл O ₂ /мин/г
Первый опыт	

3	0,8
5	0,525
10	0,5
Второй опыт	
3	3,4
5	4,3
10	2,3
Третий опыт	
3	4,5
5	4,0
10	3,6

С целью сравнения было проведено определение активности фермента каталазы чистой почвы. Она составила 4 мл O₂/мин/г.

По результатам эксперимента были построены графики изменения активности каталазы. Графики приведены на рисунке 3.

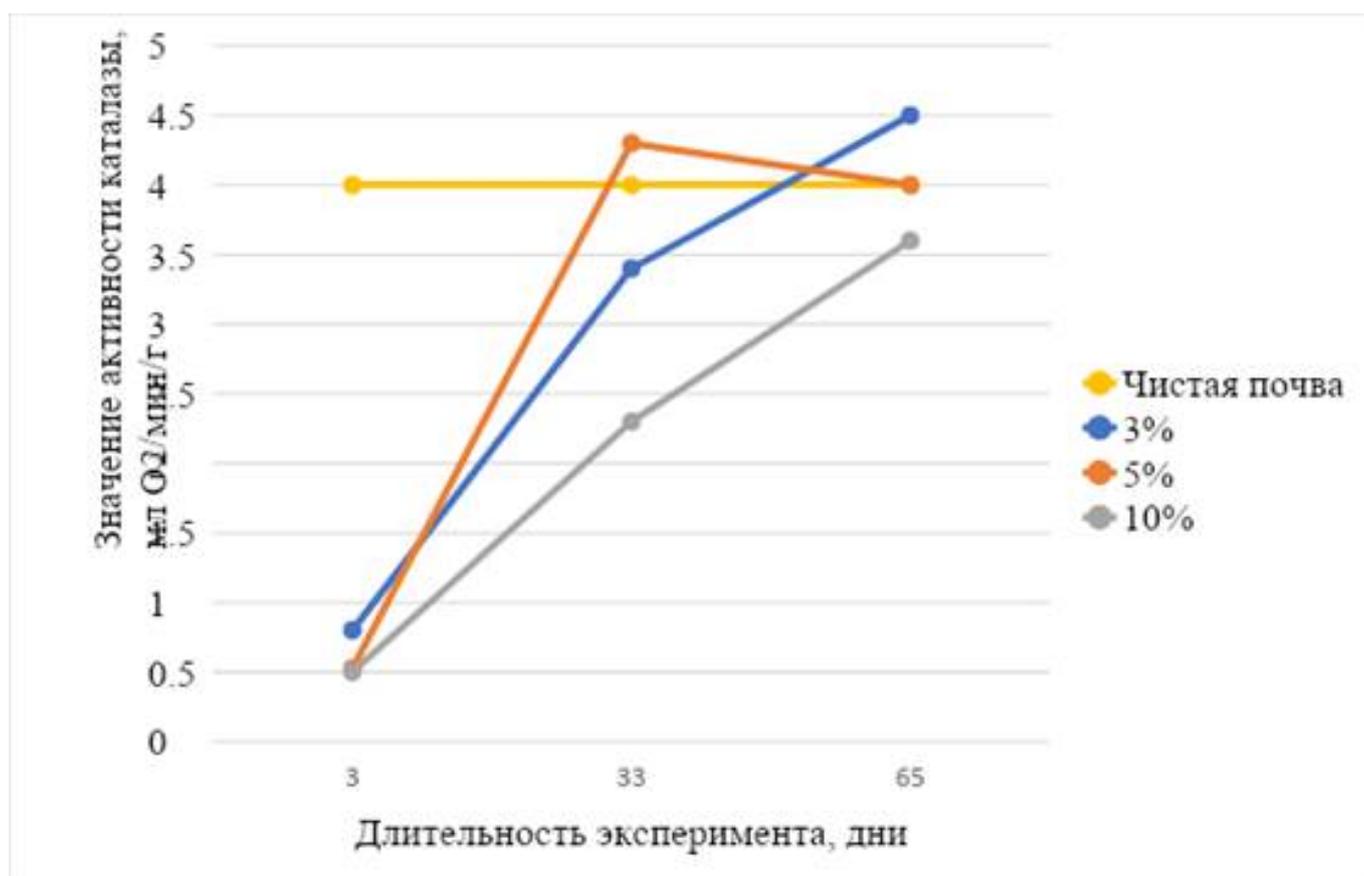


Рисунок 3. Графики изменения активности каталазы в течение эксперимента

На графиках видно, что в начале эксперимента активность фермента каталазы в загрязненных образцах была значительно ниже, чем активность каталазы в чистой почве.

Спустя 33 дня после внесения биопрепарата значение активности фермента каталазы увеличилось и показатели загрязненных образцов с концентрациями нефти 3% и 10% приблизились к значениям активности в чистой почве. Также нужно отметить, что значение активности каталазы в образце с концентрацией нефти 5% стало выше, чем в чистой почве.

За последующие 32 дня активность каталазы в образцах с концентрациями нефти 3% и 10% продолжила увеличиваться, а в образце с концентрацией нефти 5% активность каталазы снизилась по сравнению с предыдущим значением.

По низким начальным показателям активности фермента каталазы можно сделать вывод о том, что образцы почвы были загрязнены нефтью, так как нефтяное загрязнение ингибирует активность фермента. [25]

По дальнейшему увеличению активности можно сделать вывод о том, что концентрация загрязнителя уменьшилась по сравнению с исходными значениями.

Заключение

По результатам эксперимента можно сделать вывод о том, что внесение биопрепарата «БИОРОС» приводит к стимулированию активности нефтеокисляющих микроорганизмов и увеличению синтеза ферментов каталазы и дегидрогеназы.

Список литературы:

1. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2018 году». М.: Минприроды России; НПП «Кадастр», 2019
2. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2016 году». М.: АНО «Центр международных проектов», 2017
3. Ежегодник. Загрязнение почв Российской Федерации токсикантами промышленного происхождения в 2018 году. – Обнинск: ФГБУ НПО «Тайфун», - 2019 – 118 с.
4. Хазиев Ф. Х. Почвенные ферменты. М.: Знание, 1972. 32 с.
5. Хазиев ф.Х., Тишкина Е.И., Киреева Н.А., Кузяхметов Г.Г. Влияние нефтяного загрязнения на некоторые компоненты агроэкосистемы // Агрехимия. 1988. № 2. С. 56-61
6. Инструкция «Применение препарата «БИОРОС» для биологической очистки и реабилитации загрязненных сред»
7. Парфенова Н.М., Григорьев Е.Б., Ксякова Л.С., Крайн Д.Р., Шафиев И.М., Логинов В.А., Заночуева И.В., Томиленко А.А. Углеводородное сырье Чаяндинского НГКМ: газ, конденсат, нефть // Научно – технический сборник «Вести газовой науки». 2017. № 2(30).