

УДК 579.873.6.017.7

DOI: 10.15372/KhUR20170505

Изучение трансформации гудрона и его высокомолекулярных компонентов в почве

М. А. КОПЫТОВ, Д. А. ФИЛАТОВ, Е. А. ЕЛЬЧАНИНОВА, Л. А. СТРЕЛЕЦ

*Институт химии нефти Сибирского отделения РАН,
Томск, Россия**E-mail: Filatov@ipc.tsc.ru*

(Поступила 02.09.16; после доработки 01.06.17)

Аннотация

Представлены результаты биохимического окисления гудрона Новокуйбышевского нефтеперерабатывающего завода с высоким содержанием гетероэлементов в модельной почвенной системе. Показано, что на 4–5-е сут эксперимента после загрязнения численность микроорганизмов восстанавливается до исходного уровня, а на 45–150-е сут возрастает в 20–30 раз. Ферментативная активность загрязненной почвы увеличивается в 1.5–1.8 раза, что свидетельствует о повышении оксигеназной активности микроорганизмов и, как следствие, об ассимиляции различных углеводородных соединений. Определено, что в процессе биодеструкции компонентов гудрона образуются и накапливаются продукты неполного окисления УВ. Установлено, что за 180 сут эксперимента утилизация исследуемого нефтепродукта составила 50 % от исходного загрязнения. Методом хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) показано, что аборигенная почвенная микрофлора способна к минерализации практически всех УВ, входящих в состав гудрона. Показано, что микробиологическому разложению подвергаются и высокомолекулярные гетероатомные компоненты гудрона; структура этих молекул в процессе деструкции претерпевает глубокие изменения.

Ключевые слова: нефтяные загрязнения, биodeградация, аборигенная почвенная микрофлора, углеводородокисляющие микроорганизмы, ферментативная активность, насыщенные и ароматические углеводороды, гудрон

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы, связанной с загрязнением окружающей среды различными видами нефтепродуктов (НП) техногенного происхождения, очевидна [1]. Техногенные потоки углеводородов образуются в ходе добычи, транспортировки и переработки углеводородного сырья. Они играют существенную роль в антропогенном изменении естественных круговоротов вещества [2]. Присутствие нефтепродуктов в почве приводит к нарушениям биогеоценоза, вплоть до гибели живых организмов почвы при высоких концентрациях углеводородов [3].

Негативное воздействие жидких НП в большей степени связывается с нарушением водно-воздушного режима почвы. Трансфор-

мацию НП можно условно разделить на абиотическую фазу (от свежего до зрелого загрязнения) и биотическую деградацию на поверхности земли и в почвах [4]. При разложении органических загрязнений, попадающих в окружающую среду, ведущую роль играют микроорганизмы [5]. Углеводородокисляющие природные биоценозы развиты повсеместно во всех типах почв и природных вод, разных ландшафтно-климатических зон [6]. Однако интенсивность процесса биodeградации углеводородов (УВ) зависит от температуры, продолжительности летнего периода и других лимитирующих факторов, а также от особенностей биоценоза [7].

Как свободные, так и малоподвижные связанные формы НП отдадут летучие фракции

в атмосферу, а растворимые соединения – в воду. Этот процесс полностью не прекращается со временем, так как микробиологические процессы трансформации УВ приводят к образованию летучих и водорастворимых продуктов их метаболизма.

Один из таких НП – гудрон, образующийся в результате отгонки нефти, до фракций, выкипающих при 450 °С. В состав гудрона входят нафтеновые, ароматические, парафиновые углеводороды, а также высокомолекулярные гетероатомные соединения (ВМГС). Как правило, в гудроне концентрируются практически все присутствующие в нефти металлы. В основном гудрон используют для производства дорожных, кровельных и строительных битумов, малозольного кокса, смазочных масел. Исследуемый гудрон характеризуется высоким содержанием смолисто-асфальтеновых компонентов (39.3 %) [8]. Считается, что эти вещества устойчивы к окислению микроорганизмами; процесс их метаболизма идет медленно, иногда десятки лет. При просачивании НП сверху его смолисто-асфальтеновые компоненты сорбируются преимущественно в верхнем, гумусовом горизонте, иногда прочно цементируя его и тем самым уменьшая поровое пространство почв. Смолисто-асфальтеновые вещества гидрофобны, при обволакивании корней растений они препятствуют поступлению к ним влаги, что может привести к гибели растений. Однако благодаря сложной системе биоценоза (прежде всего, содержанию гидролизующих и окислительных ферментов, включая полифенолоксидазы и пероксидазы), почвы способны утилизировать часть попадающих нефтяных компонентов посредством биохимической деградации и окислительной деструкции, вплоть до превращения их в органические вещества, усваиваемые растениями [9, 10].

Цель работы – исследование способности почвы к самовосстановлению при загрязнении ее продуктом нефтепереработки (гудроном) в условиях лабораторного эксперимента.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объекта исследования выбран гудрон Новокуйбышевского нефтеперерабатывающего завода (НПЗ). Элементный состав,

мас. %: С 82.28, Н 10.73, S 3.95, N 0.19, O₂ 1.14; Н/С = 1.56. Компонентный состав, %: масла 60.7, смолы 33.6, асфальтены 5.7.

Загрязнение почвы проводили искусственно. Для приготовления модельных почвенных систем использовали универсальный почвогрунт “Гарант”. Почву взвешивали, вносили в нее гудрон в количестве 50 г/кг, тщательно перемешивали. Затем загрязненную почву помещали в стеклянные эксикаторы (толщина слоя почвы 12.5 см) и инкубировали при температуре 22 °С. Влажность поддерживали в диапазоне 25–27 %. В ходе эксперимента для аэрации периодически проводили рыхление почвы. Продолжительность эксперимента составила 180 сут. Выбор условий экспериментов основан на результатах предыдущих опытов по биодеструкции высоковязких нефтей и битумов [11, 12].

Схема эксперимента:

1) контроль: чистая почва для сравнительной оценки динамики численности микроорганизмов и ферментативной активности;

2) опыт 1: почва, загрязненная нефтепродуктом, для определения динамики численности микроорганизмов и ферментативной активности;

3) опыт 2: почва, загрязненная нефтепродуктом, для определения степени утилизации и изучения изменения состава гудрона.

В ходе оп. 1 для оценки численности микроорганизмов и ферментативной активности почвы через определенный временной промежуток отбирали усредненные пробы, из которых выделяли гетеротрофную микрофлору посевом кратных разведений на мясо-пептонном агаре (МПА). После термостатирования вели подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ), а затем пересчитывали на 1 г сухой почвы [13]. Каталазную активность определяли газометрическим методом. Дегидрогеназную, полифенолоксидазную и пероксидазную активность почвы определяли фотокolorиметрическими методами [14].

Степень деструкции гудрона определяли по содержанию остаточных нефтепродуктов в почве гравиметрическим методом. Для этого нефть из загрязненной почвы (оп. 2) экстрагировали хлороформом в аппарате Сокслета, затем фильтровали. Извлеченный нефтепродукт (гудрон) освобождали от хлороформа на роторном испарителе и взвешивали [15].

Реологические измерения образцов исходного и биодеградированного гудрона проводились в динамическом режиме (т. е. при осциллирующем напряжении сдвига) в измерительной геометрии плоскость/плоскость. Значения модуля упругости (G'), угла сдвига фаз (δ) и вязкости (η) образцов измеряли с помощью реометра RheoStress (НААКЕ).

Изменение структурного состава гудрона определяли методом ИК-спектроскопии на спектрометре Фурье Nicolet 5700 (FT-IR), Thermo Electron (США).

Компонентный анализ органических соединений исходного и биодеградированного гудрона проводили методом хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) с использованием магнитного спектрометра DFS (Thermo Scientific, Германия) с кварцевой капиллярной хроматографической колонкой (длина 30 м, неподвижная фаза TR-5MS).

Содержание смол и асфальтенов определяли по стандартной методике [16]. Смолы и асфальтены, выделенные из исходного и биодеградированного гудрона, подвергали структурно-групповому анализу (СГА) по методике, разработанной в ИХН СО РАН и основанной на совместном использовании результатов определения элементного состава, средних молекулярных масс и данных ПМР-спектроскопии [17, 18]. Содержание углерода, водорода, азота и кислорода определяли на элементном анализаторе Vario EL Cube (Германия). Содержание серы определяли методом двойного сжигания. Молекулярные массы веществ измеряли методом криоскопии в нафталине на разработанном в ИХН СО РАН микрокалориметре "Крион". Спектры протонного магнитного резонанса снимали на ЯМР-Фурье-спектрометре Avance-AV-300, используя дейтерохлороформ в качестве растворителя и гексаметилдисилоксан в качестве внутреннего стандарта, при 1 % концентрации исследуемых веществ.

Для представления данных СГА заимствованы обозначения структурных параметров из наших предыдущих работ [17, 18]: C_a , C_n , C_p , C_α , C_γ – количества атомов углерода в ароматических, нафтеновых и парафиновых структурах молекул, в α -положениях к гетерофункциональным и ароматическим ядрам и в не связанных с последними терминальных метильных

группах (C_p) соответственно; f_a , f_n и f_p – доли углеродных атомов в соответствующих структурных фрагментах; K_o – общее число колец; K_a и K_n – количества ароматических и нафтеновых циклов в средней молекуле соответственно; m_a – среднее число структурных блоков в молекуле.

Повторность измерений в экспериментах трехкратная. Данные в табл. 1–5 на рис. 1–4 приведены в виде средних арифметических значений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Активность микробиологических процессов и совокупность абиотических факторов (свет, влажность, температура, механический и минеральный состав почв и т. д.) во многом определяют условия протекания химических и биологических преобразований нефтяных углеводородов (УВ) [1].

На рис. 1 представлена динамика численности гетеротрофных бактерий в чистой (контроль) и загрязненной нефтепродуктом почве. Видно, что в начальный период, в 1–3-е сут после загрязнения почвы, численность микроорганизмов незначительно снижается – от $(5-5.5) \cdot 10^6$ до $(2-2.5) \cdot 10^6$ КОЕ/г почвы. По-видимому, это связано с гибелью неустойчивых групп микроорганизмов в результате токсического действия некоторых УВ на почвенную микрофлору. На 4–5-е сут после загрязнения численность микроорганизмов возрастает до исходного уровня. Очевидно, происходит перестройка микробиоценоза почвы, при

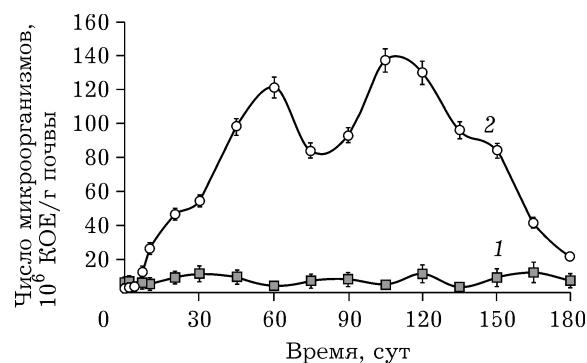


Рис. 1. Динамика численности гетеротрофных микроорганизмов в контрольной (1) и в загрязненной нефтепродуктом почве (2).

которой преимущество получает углеводород-окисляющая группа микроорганизмов (УОМ), способная к деструкции нефтяных УВ. Также в процессе адаптации некоторые микроорганизмы могут приобретать способность к окислению УВ, например, за счет полиморфизма или переноса генетического материала (трандукция, конъюгация и т. д.). Максимум численности гетеротрофных бактерий достигнут на 60-е и 105-е сут эксперимента и составил $(120-137) \cdot 10^6$ КОЕ/г почвы. Их высокая численность сохранялась вплоть до 150-х сут опыта. В контроле максимальная численность микроорганизмов значительно меньше и не превышает $(11-12) \cdot 10^6$ КОЕ/г почвы (см. рис. 1, кривая 1).

За время проведения эксперимента в образцах загрязненной почвы снижается биоразнообразие почвенной микрофлоры и доминируют представители следующих родов: *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Flavobacterium* и *Micrococcus*.

Известно, что минерализация нефтяных УВ в почве происходит при участии различных

ферментов. Ферментативная активность почв обусловлена не только различным содержанием микроорганизмов, но и их разнообразием и физиологической активностью, поэтому количественные изменения, происходящие в микробном ценозе загрязненных почв, не отражают изменения в ее активности [2]. Важнейшие и широко распространенные ферменты у почвенных микроорганизмов – дегидрогеназа, каталаза, полифенолоксидаза и пероксидаза.

Показано, что с первых суток эксперимента растет активность всех исследованных ферментов. На рис. 2, а представлена динамика образования кислорода, которая отражает активность каталазы в период наблюдения. Видно, что на протяжении всего опыта ее активность в загрязненной почве выше по сравнению с таковой в контрольной почве. Максимальная концентрация O_2 зафиксирована в образцах загрязненной почвы и достигает 4.4 мл/г, в контрольном образце (чистая почва) на протяжении всего эксперимента она не превышает 3.2 мл/г (см. рис. 2, а). На рис. 2, б показана динамика образования трифенилформазана (ТФФ), отражающая активность почвенных дегидрогеназ. Активность этого фермента растет до 150-х сут эксперимента, что косвенно свидетельствует о биодеструкции *n*-алканов и алифатических цепочек в составе сложных молекул. Количество полученного ТФФ в почве с гудроном возрастает до 0.52 мг/г, в контрольном варианте оно не превышает 0.42 мг/г (см. рис. 2, б). Это свидетельствует о повышении оксигеназной активности аборигенной почвенной микрофлоры и интенсивности процессов биоразложения отдельных компонентов, входящих в состав гудрона.

При изучении биодеструкции значительное внимание уделяется почвенным фенолоксидазам (пероксидазы и полифенолоксидазы), которые играют важную роль в процессах гумификации, оказывают защитное действие на почву, разлагая различные ксенобиотики [2], участвуют в многостадийных процессах разложения и синтеза органических соединений ароматического ряда.

Показано, что активность этих ферментов растет до конца эксперимента. Это может свидетельствовать об окислении полиароматических УВ и структурного каркаса высокомолекулярных соединений, который составляют

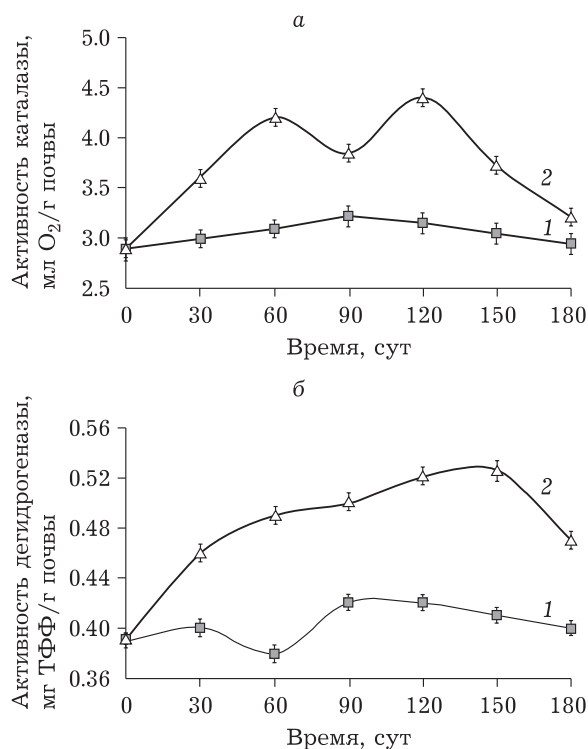


Рис. 2. Изменение каталазной (а) и дегидрогеназной (б) активности: 1 – чистая почва, 2 – загрязненная почва.

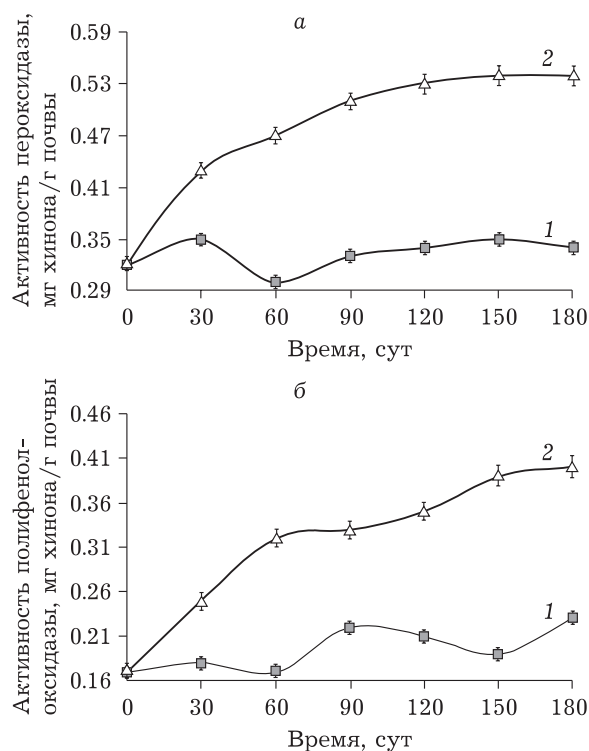


Рис. 3. Изменение пероксидазной (а) и полифенолоксидазной (б) активности: 1 – чистая почва, 2 – загрязненная почва.

ароматические структуры. Концентрация хинона, отражающая активность пероксидазы и полифенолоксидазы, в почве с гудроном к концу эксперимента увеличивается до 0.54 и

0.4 мг/г соответственно (рис. 3). В контрольной почве активность этих ферментов не превышает 0.34 и 0.22 мг/г соответственно. Полученные результаты превышают контрольные данные в 1.6–1.8 раза.

Гравиметрический метод показал, что утилизация гудрона в модельной почвенной системе за 180 сут составила 25 г/кг (50 %).

При разрушении нефтепродуктов в почве накапливаются продукты неполного окисления некоторых углеводородов, поверхностно-активные свойства которых способствуют эмульгированию УВ в мелкие капли и тем самым – поглощению их микробными клетками. Кроме того, повышается степень смачивания клеточной поверхности углеводородами, что обеспечивает диффузию УВ через клеточную мембрану.

В ИК-спектрах остаточных углеводородов, экстрагированных из почвы, появляются дополнительные полосы поглощения (п. п.) в области 3338, 1705, 1170, 1032 см⁻¹ (рис. 4). Их появление свидетельствует о большом количестве различных кислородсодержащих соединений – промежуточных продуктов метаболизма. Это согласуется с классической схемой окисления углеводородов, которые сначала окисляются до спиртов, альдегидов, кетонов, насыщенных и ароматических карбоновых кислот и далее – до CO₂ и H₂O.

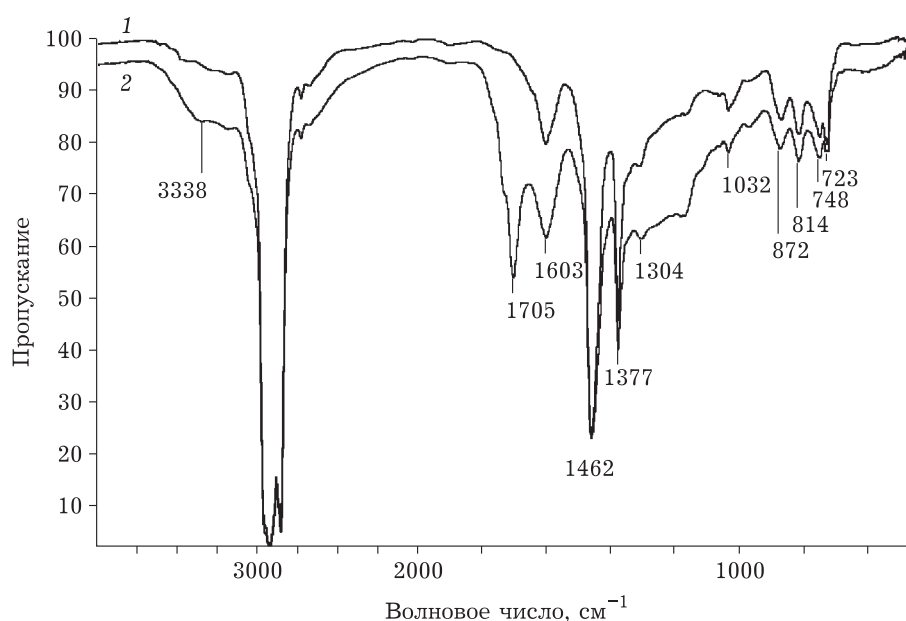


Рис. 4. ИК-спектры образцов исходного (1) и биодegradированного (2) гудрона.

ТАБЛИЦА 1

Реологические свойства исходного и биодegradированного гудрона Новокуйбышевского НПЗ

T, °C	G', Па		Вязкость η , Па · с		Угол сдвига фаз δ , °	
	Исходный	Биодegradированный	Исходный	Биодegradированный	Исходный	Биодegradированный
50	2.33	28 870.80	22.51	10 443. 66	89.05	65.84
60	0.82	6615.20	9.55	3293.95	89.21	72.41
70	0.13	1088.80	5.24	923.61	89.69	79.37
80	0.17	186.60	1.83	279.61	89.16	83.93
90	0.16	34.89	0.97	100.47	88.51	86.73
100	0.15	4.48	0.57	35.48	87.63	88.86

Реологические измерения образцов гудрона и продуктов его биодegradации проводились в динамическом режиме, т. е. при осциллирующем напряжении сдвига. Данные табл. 1 однозначно свидетельствуют о значительном усилении упругих свойств (G' , δ) и увеличении вязкости (η) продуктов биодegradации гудрона (после деструкции в почве). Так, вязкость биодegradированного образца на 2–3 порядка превышает вязкость исходного гудрона.

У биодegradированного образца с ростом температуры существенно изменяются его модуль упругости и вязкость: при нагревании до 100 °C величина G' уменьшается на 4 порядка, а η – на три. (У исходного гудрона эти параметры возрастают в 16 и 40 раз соответственно.) При динамических измерениях ньютоновской жидкости деформация опережает напряжение сдвига на 90°, что выражается через угол сдвига фаз $\delta = 90^\circ$. При испытании идеально твердого тела напряжение сдвига и деформация совпадают по фазе, т. е. $\delta = 0^\circ$. В изученном диапазоне температур у исходного гудрона $\delta \approx 89\text{--}88^\circ$, поэтому можно утверждать, что исходный гудрон является жидкостью, и упругими свойствами не обладает. У окисленного в процессе биодеструкции гудрона угол сдвига фаз заметно умень-

шается ($\delta = 65.8^\circ$, см. табл. 1), появляется заметная упругость, также изменяется ход температурной зависимости угла сдвига фаз, т. е. система переходит из состояния жидкости в состояние практически твердого тела.

Очевидно, это связано с относительным увеличением содержания смолисто-асфальтовых веществ (САВ) в биодegradированном образце гудрона, где доля САВ превышает 50 % (табл. 2). Вероятно, в процессе биодеструкции образуются надмолекулярные структуры на основе асфальтенового ядра и сольватной оболочки, состоящей из молекул смолисто-масляных компонентов. Благодаря значительному содержанию высокомолекулярных компонентов (смоли и асфальтенов), гудрон проявляет вязкоупругие свойства. Для исходного образца подобное явление не наблюдалось во всем изученном диапазоне температур. Важно отметить, что исходный гудрон растекается гораздо лучше, чем биодegradированный, т. е. деструкция гудрона также изменяет его поверхностное натяжение.

Согласно результатам хромато-масс-спектрометрического анализа, биодеструкции подверглись все УВ, входящие в состав гудрона (табл. 3). Общая деструкция насыщенных алканов составила 58.6 %, не окисленными остались твердые, высокомолекулярные парафины. Хотя ароматические углеводороды более устойчивы к микробиологическому окислению, чем парафины и нафтены, деструкция голоядерного нафталина прошла на 60.3 %, при этом деструкция его алкилзамещенных гомологов составила 77.8–100.0 %. Деструкция голоядерного фенантрена и флуорантена + пирена составила 84.9 и 75.2 % соответственно, а биодеструкция их метилзаме-

ТАБЛИЦА 2

Вещественный состав гудрона до и после биодegradации

Компоненты	Содержание, мас. %	
	Исходный гудрон	После биодegradации
Масла	60.70	48.82
Смоли	33.60	40.31
Асфальтены	5.70	10.86

ТАБЛИЦА 3

Хромато-масс-спектрометрический анализ масляной фракции исходного и биodeградированного гудрона Новокуйбышевского НПЗ

Углеводороды	Концентрация в гудроне, мкг/г		Деструкция, %
	Исходный	Биodeградированный	
Алканы	1053.788	435.999	58.62
Нафталин	0.877	0.348	60.31
Метилнафталин	0.394	0.087	77.87
Диметилнафталин	1.591	0.005	99.66
Триметилнафталин	2.420	0.000	100.00
Тетраметилнафталин	6.229	0.000	100.00
Фенантрен	3.121	0.468	84.98
Метилфенантрен	13.364	0.492	96.31
Диметилфенантрен	43.038	3.694	91.41
Триметилфенантрен	24.654	2.498	89.86
Дибензотиофен	3.252	0.384	88.18
Метилдибензотиофен	13.420	0.382	97.15
Диметилдибензотиофен	34.904	2.566	92.64
Флуорантен + пирен	0.945	0.233	75.29
Метилфлуорантен + пирен	3.141	0.259	91.76
Диметилфлуорантен + пирен	6.103	0.283	95.36
Сумма аренов	157.449	10.986	93.02
Стераны	48.849	13.860	71.62
Гопаны	262.062	90.838	65.34

ценных гомологов – 91.4–96.3 %. Вероятно, биodeградация полярных ароматических соединений идет гораздо легче, окисление происходит преимущественно по месту присоединения боковой цепи. Микробиологическое окисление гетероатомных соединений (дибензотиофены) прошло на 88.1–97.1 %, при этом метилзамещенные дибензотиофены подвергаются биологическому окислению гораздо легче, чем голоядерные, как и в случае с ароматическими углеводородами. Микроорганизмы осуществляют распад ароматических углеводородов до конечного продукта – алифатических кислот, включающихся в метаболизм микробной клетки [6].

Стераны являются одними из представителей тетрациклических насыщенных углеводородов, а гопаны – пентациклических изопреноидных УВ. Считается, что эти соединения наиболее устойчивые в составе нефтей и служат маркирующими объектами для геохимических целей. Однако, как показано в данной работе, в аэробных условиях они подвергаются довольно интенсивному окислению.

Общая деструкция стеранов и гопанов составила 71.6 и 65.3 % соответственно.

Таким образом, в результате биохимического окисления гудрона микроорганизмы разрушают не только *n*-алканы, которые наиболее доступны для микробиологического окисления, но и ароматические, полициклические и гетероатомные соединения (см. табл. 3). По-видимому, это обусловлено большим разнообразием почвенных микроорганизмов, способных окислять все компоненты внесенного нефтепродукта.

Детальный анализ биodeструкции высокомолекулярных гетероорганических соединений (смола и асфальтенов) показал, что микробиологическое окисление приводит к глубоким изменениям структурно-групповых характеристик смола и асфальтенов. В процессе биodeградации гудрона заметно изменяется вещественный состав, что, в первую очередь, связано с биodeструкцией масел, содержание которых снижается с 60.70 до 48.82 мас. % (см. табл. 2).

Увеличение доли смола с 33.60 до 40.31 мас. % и асфальтенов с 5.70 до 10.86 мас. % обусловлено как снижением доли масел, так

ТАБЛИЦА 4

Средние структурные параметры молекул смол и асфальтенов исследуемого гудрона и продуктов его биодеградаци

Параметры	Асфальтены		Смолы	
	Исходные	После деструкции	Исходные	После деструкции
	<i>Среднечисловая молекулярная масса, а. е. м.</i>			
	718	1390	600	844
	<i>Элементный состав, мас. %</i>			
C	82.9	78.3	81.7	80.3
H	7.1	7.2	9.6	7.8
N	1.7	1.1	1.3	1.1
S	4.9	3.8	4.1	4.4
O	3.3	9.6	3.3	6.3
	<i>Число атомов в средней молекуле</i>			
C	49.6	90.7	40.8	56.5
H	50.9	99.4	57.4	65.3
N	0.9	1.1	0.6	0.7
S	1.1	1.6	0.8	1.2
O	1.5	8.3	1.2	3.3
H/C	1.03	1.10	1.41	1.16
	<i>Кольцевой состав</i>			
K _o	13.4	18.6	6.3	16.0
K _a	5.6	10.6	3.1	4.0
K _n	7.8	7.9	3.3	12.0
	<i>Фактор ароматичности, %</i>			
f _a	46.5	46.2	14.5	28.1
	<i>Среднее число блоков в молекуле</i>			
m _a	2.0	3.1	1.5	1.7

и превращением окисленных компонентов масел в смолы и асфальтены. Это подтверждается данными СГА (табл. 4), согласно которым, в средней молекуле смол и асфальтенов возрастает молекулярная масса и количество гетероароматических атомов, особенно кислорода и серы.

Усредненная молекула асфальтенов исходного гудрона имеет молекулярную массу 718 а. е. м., состоит из двух блоков, которые преимущественно сложены ароматическими структурами (фактор ароматичности $f_a = 46.5$), соотношение Н/С = 1.03.

В процессе биодеградаци состав асфальтенов изменяется не только количественно, но и качественно. Средняя молекулярная масса асфальтенов возрастает с 718 до 1390 а. е. м., число блоков (m_a) в средней молекуле увеличивается с 2.0 до 3.1; среднее число атомов углерода увеличивается почти в два раза – с

49.6 до 90.7; число атомов кислорода возрастает в 5.5 раза. Данные изменения могут объясняться включением в состав асфальтенов окисленных компонентов смол и масел. Цепочка превращения компонентов может выглядеть следующим образом: масла > смолы > асфальтены. При этом фактор ароматичности (f_a) снижается с 46.5 до 46.2; атомное соотношение Н/С увеличивается с 1.03 до 1.10, что также указывает на включение в состав асфальтенов более насыщенных компонентов из смол и масел.

Средняя молекула смол исходного гудрона имеет молекулярную массу 600 а. е. м., среднее число блоков в молекуле $m_a = 1.5$. Исходные смолы имеют низкий фактор ароматичности (14.5) и состоят преимущественно из нафтеновых колец (общее число колец $K_o = 6.3$, из них нафтеновых колец (K_n) – 3.3). Соотношение Н/С достаточно низкое – 1.41, что объяс-

няется высокой цикличностью молекул и высоким содержанием гетероатомов в структуре.

Биодеструкция существенно влияет на структурно-групповые параметры молекул смол гудрона: молекулярная масса увеличивается с 600 до 844 а. е. м., среднее число блоков m_a – с 1.5 до 1.7. Среднее количество атомов углерода растет с 40.8 до 56.5, серы – в 1.5 раза (с 0.8 до 1.2), кислорода – в 2.75 раза (с 1.2 до 3.3). При этом величина f_a возрастает с 14.5 до 28.1, соотношение Н/С уменьшается с 1.41 до 1.16. Увеличение фактора ароматичности и количества атомов кислорода в средней молекуле обусловлено включением в состав смол окисленных полиароматических компонентов масел.

Анализ результатов СГА высокомолекулярных гетероатомных компонентов гудрона позволяет сделать вывод о том, что структура этих молекул в процессе деструкции аборигенной почвенной микрофлорой претерпевает глубокие изменения. В то же время нельзя утверждать, что окисление гудрона в почве связано только с микробиологическими процессами. Вероятно, определенную роль в деструкции НП играют и абиотические факторы среды.

Степень трансформации и скорость самоочищения почв от НП – величина непостоянная и определяется не только составом и концентрацией нефтепродукта в почве. Способность экосистем к самовосстановлению при попадании в них компонентов нефти или НП зависит от типа почв, геолого-географического ландшафта, климатических условий, видового состава растительного покрова и почвенных микроорганизмов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют об адаптации аборигенной почвенной микрофлоры к относительно невысокой концентрации исследуемого нефтепродукта. Численность микроорганизмов в ходе эксперимента возрастает на 1.0–1.5 порядка, активность изучаемых ферментов – в 1.5–1.8 раза. Проведенные исследования показали, что процессы микробиологического преобразования гудрона в почве протекают весьма интенсивно. Общая биодеструкция гудрона за 180 сут составила 50.0 мас. %

от исходного загрязнения, причем все УВ подверглись окислению на 58.6–100.0 %.

Процесс окисления гудрона сопровождается изменением группового и индивидуального углеводородного состава. При этом в продуктах биодеградациии происходит накопление смол и асфальтенов, как за счет уменьшения доли углеводородных компонентов, так и за счет образования различных кислородсодержащих циклических соединений, которые входят в состав смол и асфальтенов.

Таким образом, процессы биоремедиации почв, загрязненных различными органическими соединениями нефтяного ряда, могут быть интенсифицированы путем стимулирования естественной микрофлоры без использования коммерческих микробных препаратов. А применение нефтеокисляющих штаммов оправдано лишь при высоких уровнях углеводородного загрязнения почв или при слабом развитии естественной микрофлоры, например, в бедных почвах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Обороин А. А., Хмурчик В. Т., Иларионов С. А., Маркарова М. Ю., Назаров А. В. Нефтезагрязненные биосенсоры. Пермь: Изд-во ПГУ, 2008. 511 с.
- 2 Середина В. П., Бурмистрова Т. И., Терещенко Н. Н. Нефтезагрязненные почвы: свойства и рекультивация. Томск: Изд-во ТПУ, 2006. 270 с.
- 3 Иларионов С. А. Экологические аспекты восстановления нефтезагрязненных почв. Екатеринбург: Уро РАН, 2004. 194 с.
- 4 Хаустов А. П., Редина М. М., Луценкова Е. О. // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2011. № 6. С. 8–13.
- 5 Тимергазина А. Ф., Переходова Л. С. // Нефтегазовая геология. Теория и практика. 2012. Т. 7, № 1. С. 1–28.
- 6 Жуков Д. В., Мурыгина В. П., Калужный С. В. // Усп. совр. биологии. 2006. Т. 126, № 3. С. 285–296.
- 7 Хаустов А. П. // Литосфера. 2014. № 1. С. 105–116.
- 8 Кривоносова А. Г., Кривцов Е. Б., Головкин А. К. // Тр. XIX Междунар. науч. симп. молодых ученых им. акад. М. А. Усова “Проблемы геологии и освоения недр”. Томск: Изд-во ТПУ, 2015. Т. 2. С. 171–173.
- 9 Гирич И. Е., Алешина Н. Ю., Карасев С. Г. // Биотехнология. 2005. № 2. С. 67–72.
- 10 Киреева Н. А., Новоселова Е. И., Григориади А. С. // Агробиотехнология. 2009. № 7. С. 71–80.
- 11 Kopytov M. A., Filatov D. A., Altunina L. K. // Petroleum Chemistry. 2014. Vol. 54, No. 1. P. 58–64.
- 12 Филатов Д. А., Кривцов Е. Б., Свириденко Н. Н., Головкин А. К., Алтунина Л. К. // Биотехнология. 2014. № 4. С. 74–82.
- 13 Звягинцев Д. Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во МГУ, 1991. 231 с.
- 14 Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.

- 15 Другов Ю. С., Родин А. А. Анализ загрязненной почвы и опасных отходов. Практическое руководство. М.: Бином, 2007. 263 с.
- 16 Гринько А. А., Головки А. К. // Нефтехимия. 2011. Т. 51, № 3. С. 204–213.
- 17 Камьянов В. Ф., Большаков Г. Ф. // Нефтехимия. 1984. Т. 24, № 4. С. 443–452.
- 18 Дмитриев Д. Е., Головки А. К. // Нефтехимия. 2010. Т. 50, № 2. С. 118–125.