



УДК: 579.6

ИНДИКАТОРЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ГРУНТОВЫ ВОД, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЕПРОДУКТАМИ, ПРИ СТИМУЛЯЦИИ АБОРИГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ



INDICATORS OF RESTORATION OF UNDERGROUND WATER CONTAMINATED WITH OIL PRODUCTS UNDER STIMULATION OF INDIGENOUS MICROORGANISMS

Трусей Ирина Валерьевна

кандидат биологических наук,
заведующая лабораторией,
Красноярский государственный педагогический
университет им. В.П. Астафьева
trusey@list.ru

Гуревич Юрий Леонидович

доктор физико-математических наук,
главный научный сотрудник,
Федеральный исследовательский центр
«Красноярский научный центр Сибирского
отделения Российской Академии наук»
btchem@mail.ru

Фадеев Сергей Валентинович

главный гидрогеолог,
ООО Минусинская гидрогеологическая партия
gidropartiya2009@yandex.ru

Ладыгина Валентина Петровна

кандидат физико-математических наук,
научный сотрудник,
Федеральный исследовательский центр
«Красноярский научный центр Сибирского
отделения Российской Академии наук»
btchem@mail.ru

Аннотация. Исследовано изменение гидрохимических показателей загрязненных нефтепродуктами грунтовых вод, при стимуляции роста (внесение минеральных элементов питания) аборигенных микроорганизмов. Численность аэробных (углеводородоокисляющих и аммонифицирующих) и анаэробных (денитрифицирующих) микроорганизмов увеличилась на 1–4 порядка. Численность углеводородоокисляющих составила 10^6 – 10^7 КОЕ/мл, аммонифицирующих – 10^6 – 10^8 КОЕ/мл, денитрифицирующих – 10^4 – 10^5 КОЕ/мл. Одновременно с этим в грунтовых водах изменились гидрохимические показатели. В частности, увеличилось содержание аммония (до 300 мг/дм³) и перманганатная окисляемость (до 50 мг O₂/дм³) грунтовых вод. В результате проведенных мероприятий линза нефтепродуктов на поверхности грунтовых вод сократилась с 0,2–0,5 м до 0,01–0,05 м.

Ключевые слова: грунтовые воды, нефтепродукты, биоремедиация, биостимуляция, аборигенные микроорганизмы.

Trusei Irina Valerievna

Candidate of Sciences in Biology,
Head of laboratory,
Krasnoyarsk State Pedagogical University
named after V.P. Astafiev
trusey@list.ru

Gurevich Yuri Leonidovich

Doctor of Sciences in Physics
and Mathematics,
Chief Researcher
Federal Research Center
«Krasnoyarsk Science Centre of the Siberian
Branch of Russian Academy of Science»
btchem@mail.ru

Fadeev Sergei Valentinovich

Chief hydrogeologist,
JSC Minusinsk Hydrogeological Party
gidropartiya2009@yandex.ru

Ladygina Valentina Petrovna

Candidate of Sciences in Physics
and Mathematics,
Researcher,
Federal Research Center
«Krasnoyarsk Science Centre of the Siberian
Branch of Russian Academy of Science»
btchem@mail.ru

Annotation. The change of the hydrochemical parameters of groundwater contaminated with oil products was studied under the stimulation of the growth (introduction of mineral nutrients) of indigenous microorganisms. During biostimulation, the number of aerobic (hydrocarbon-oxidizing and ammonifying) and anaerobic (denitrifying) microorganisms increased by 1-4 orders of magnitude. The number of hydrocarbon-oxidizing microorganisms was 10^6 – 10^7 CFU/ml, of the ammonifying ones – 10^6 – 10^8 CFU/ml, of the denitrifying ones – 10^4 – 10^5 CFU/ml. At the same time, hydrochemical parameters in groundwater have changed. In particular, the ammonium content increased (up to 300 mg / dm³) and permanganate oxidizability (up to 50 mg O₂/dm³). As a result of the measures taken, the lens of oil products on the surface of the groundwater decreased from 0.2–0.5 m to 0.01–0.05 m.

Keywords: groundwater, petroleum products, bioremediation, biostimulation, indigenous microorganisms.

3 загрязнение грунтовых вод нефтепродуктами в районе городов и промышленных объектов – одна из острых проблем современной экологии [1, 2]. Нередко на поверхности зеркала



грунтовых вод наблюдаются линзы нефтепродуктов мощностью до нескольких метров [2, 3]. При восстановлении нарушенной геологической среды на начальном этапе проводится механический сбор нефтепродуктов, на последующих этапах применяются методы биоремедиации. В частности, биостимуляция – активизация роста аборигенной микрофлоры, и биоаугментация – интродукция композиций из смешанных культур углеводородокисляющих микроорганизмов [4, 5].

Сущность биостимуляции заключается в активизации аборигенных микроорганизмов-деструкторов, которые присутствуют в загрязненной среде. На практике биостимуляцию обычно осуществляют путем внесения в загрязненную зону N,P,K-содержащих удобрений [6, 7]. Для подземных экосистем и анаэробных процессов биодegradации, оценка потребностей в биогенных элементах исследована слабо, поэтому подбор эффективных доз удобрений актуален. Также отметим, что биостимуляцию часто рассматривают как вспомогательный прием, который обязательно применяют при проведении биоаугментации. Ряд авторов считают, что вклад интродуцированных микроорганизмов в деградацию поллютанта существенно меньше, чем вклад биогенных элементов [4, 8]. В связи с этим представляет интерес оценить возможности биостимуляции без использования микробных препаратов.

Цель настоящего исследования – анализ динамики гидрохимических показателей грунтовых вод, загрязненных нефтепродуктами, при стимуляции роста аборигенных микроорганизмов минеральными элементами питания.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Исследовали грунтовые воды, находящиеся на территории хранилища нефтепродуктов Абаканской ТЭЦ (Хакасия) (рис. 1). Грунты сложены из гравийно-галечных, супесчаных пород, на поверхности которых имеется техногенный слой (0,5 м). Уровень грунтовых вод изменяется в пределах 4–7 м, температура – +4–8 °С. На начало исследования (2002 г) грунты были загрязнены смесью мазута, дизельного топлива, технологических масел, на поверхности грунтовых вод наблюдалась линза нефтепродуктов мощностью 0,2–0,5 м. Отбор проб грунтовой воды для исследования проводили из наблюдательных скважин (рис. 1).

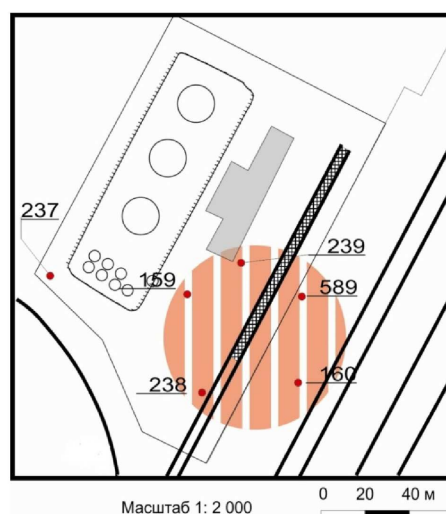


Рисунок 1 – Расположение наблюдательных скважин на территории мазутного хозяйства ТЭЦ

Восстановительные работы на объекте проводятся с 2005. Биостимуляция, в основном, включает внесение раствора минеральных элементов питания (удобрения) в грунтовые воды через наблюдательные скважины. Удобрения вносят в летне-осенний период примерно раз в месяц. Общая доза внесения удобрений на первом этапе (2005–2006 гг.) составила: нитроаммофос – 32 кг, сульфат аммония – 17,5 кг, магний сернокислый – 1,8 кг, аммофос – 1,5 кг. В последующем (с 2008 года) дозы внесения уменьшили многократно. Основными элементами подпитки микрофлоры служили азот нитратный и фосфор. В большей степени удобрения вносят в скважину 159, находящуюся в области максимального загрязнения, а также в скважины 237 и 238, расположенные выше остальных по току грунтовых вод.

Численность (по числу КОЕ) аэробных микроорганизмов (аммонифицирующих и углеводородокисляющих) определяли путем высева в многослойный агар, анаэробных (денитрифицирующих) – методом предельных разведений [9]. Аммонифицирующие (гетеротрофные) бактерии выделяли на пептонном агаре, углеводородокисляющие – на минерально-солевой среде с нефтью, среда для денитрифицирующих: пептонный агар (1,35 %), KNO_3 (0,5 %) и индикатор (бромтимолблау) [9]. Химический анализ грунтовой воды проводили по стандартным методикам на фотометре КФК-3.



РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В целом в грунтах обнаружены аэробные и анаэробные аборигенные микроорганизмы, которые способны к деградации нефтепродуктов в условиях низких температур. При внесении удобрений фиксировали увеличение численности аэробных углеводородоокисляющих микроорганизмов с 10^4 до 10^7 КОЕ/мл [9]. Общее число гетеротрофных (аммонифицирующих) бактерий увеличилось с 10^4 до 10^8 КОЕ/мл. Также, при внесении удобрений, увеличилась численность анаэробных бактерий, в большей степени – денитрифицирующих на 1–4 порядка, их численность достигала 10^4 – 10^5 КОЕ/мл [9]. В целом, увеличение численности на несколько порядков происходило без внесения микробных препаратов только за счет активизации потенциала аборигенной микрофлоры.

Одновременно с увеличением численности микроорганизмов изменялись гидрохимические показатели грунтовых вод, что свидетельствовало об интенсификации биodeградации нефтепродуктов определенными эколого-трофическими группами микроорганизмов. В частности, в очаге загрязнения увеличилось содержание аммония до 50–316 мг/дм³. Увеличение концентрации аммония наблюдали в разных скважинах в течение всего периода биостимуляции, при этом отмечали периодичность (рис. 2). Первый всплеск содержания аммония наблюдали после внесения биогенных элементов в июле-сентябре 2005 г. биостимуляции (2005–2006 гг.), второй – в период 2008–2012 гг. С 2014 по 2018 наблюдали колебания концентрации аммония в скважине 239, которая отличалась высокой замазученностью и самой низкой скоростью фильтрации воды. Как правило, после высоких концентраций аммония происходило снижение уровня загрязнения в скважинах. Так в скважине 239 восстановилась фильтрация грунтовых вод. Значительное увеличение концентрации аммонийной формы азота связано с разрушением азотсодержащих нефтепродуктов микроорганизмами, и, неизбежно при проведении биоремедиации грунтов с высоким уровнем загрязнения.

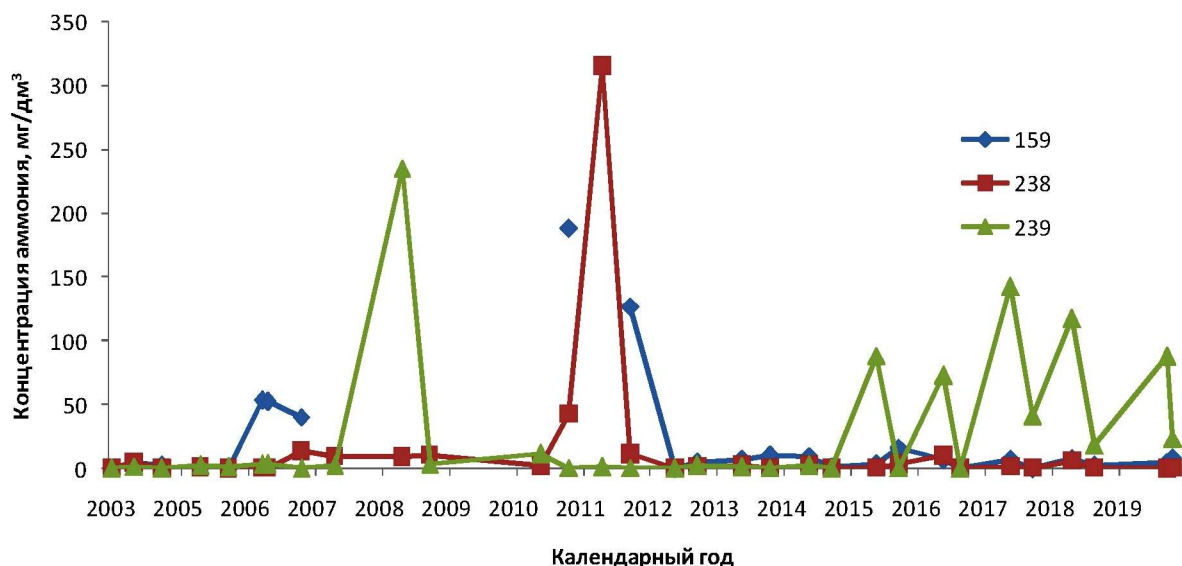


Рисунок 2 – Динамика концентрации аммония в грунтовых водах загрязненных нефтепродуктами при проведении биостимуляции

На периферии загрязненной зоны, накопление аммония не фиксировали, здесь происходило противофазное изменение содержания аммония и нитрата (рис. 3). Такой характер изменения трех форм азота свидетельствует об активности соответствующих микробиологических процессов: биodeградации азотсодержащих нефтепродуктов с выделением аммония; нитрификации (окисление аммония в нитрат) и денитрификации (восстановление нитрата до свободного азота).

Приуроченность колебаний концентрации аммония и нитрата к периферии загрязненной области объясняется тем, наличием в этой области кислорода, необходимого нитрифицирующим бактериям. В центре загрязненной зоны, содержание кислорода снижено, в результате процесс нитрификации тормозится, что приводит к накоплению аммония. Благодаря нитрификации на периферии, высокие концентрации аммония не выносились за пределы загрязненной зоны.

В период 2005–2006 гг. перманганатная окисляемость грунтовых вод увеличилась с 0,11–6 мг O_2 /дм³, а в последующем до 50 мг O_2 /дм³ (рис. 4). Это связано с биоразложением нефтепродуктов и соответствующим ростом содержания легкоокисляемых органических соединений. Растворимый органический углерод в грунтах, загрязненных углеводородами, может быть представлен полисахаридами, гуминовыми и фульвокислотами, низкомолекулярными органическими кислотами и другими соединениями [10]. Высокие значения перманганатной окисляемости наблюдали на протяжении всего периода исследований, включая 2019 г. Это свидетельствует о том, что процесс восстановления геологической среды еще не достиг фонового уровня.

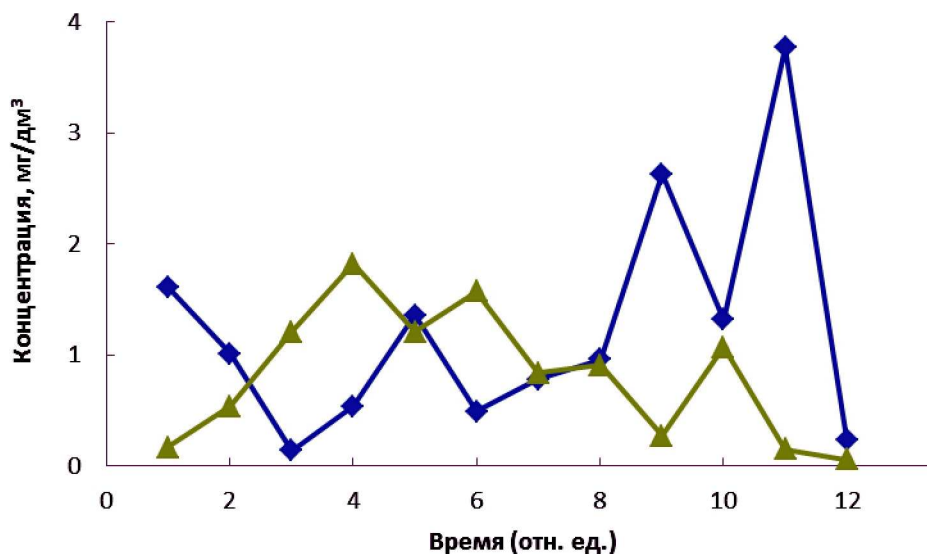


Рисунок 3 – Динамика концентраций аммония (♦) и нитрата (▲) в грунтовой воде из скважины 589 (период с апреля 2004 по октябрь 2010 гг.).

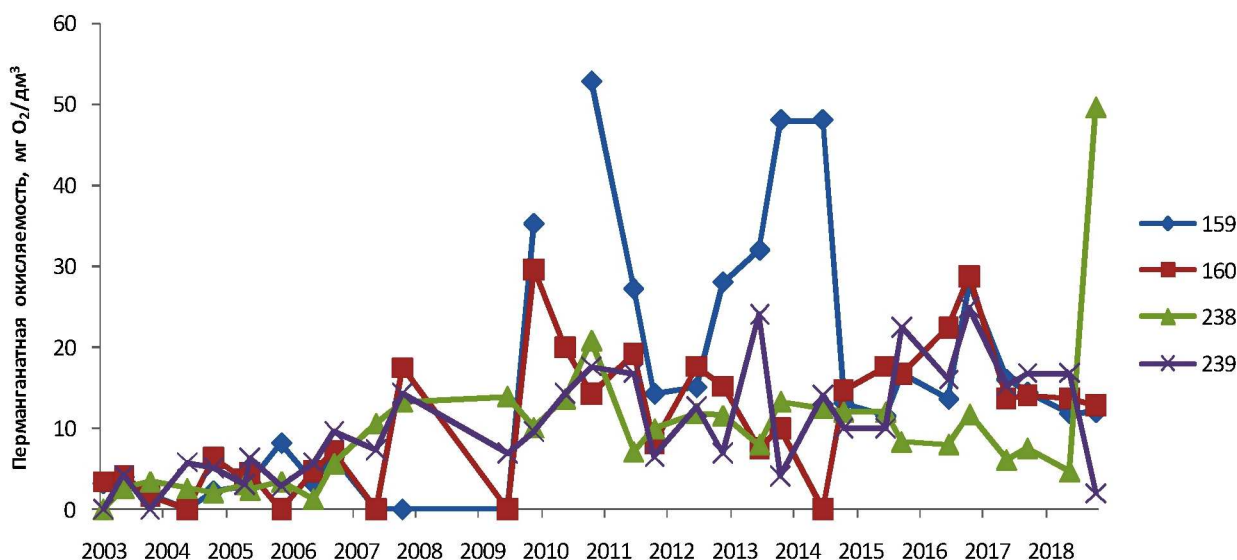


Рисунок 4 – Динамика перманганатной окисляемости грунтовых вод, загрязненных нефтепродуктами

Проведение биоремедиационных мероприятий в период 2005–2006 гг. привело к снижению концентрации нефтепродуктов в грунтовых водах на всем проблемном участке с 500–120 мг/дм³ до 10–1,5 мг/дм³ [4, 10]. Следует отметить, что концентрация нефтепродуктов в наблюдательных скважинах изменяется в зависимости от времени года и метеорологических условий. Несмотря на тенденцию снижения, периодически наблюдались повышенные концентрации нефтепродуктов. Со временем это происходило только в отдельных скважинах. В 2019 г. на поверхности грунтовых вод в скважинах 159 и 160 был слой нефтепродуктов мощностью менее 0,01–0,05 м. В скважинах 237, 238 и 239 слой отсутствовал, концентрация нефтепродуктов составляла 15–0,1 мг/дм³.

Таким образом, при проведении биоремедиационных мероприятий в грунтовых водах, загрязненных нефтепродуктами, получена оценка изменения микробиологических и гидрохимических показателей. Показано, что внесение минеральных элементов питания стимулирует развитие аборигенной микрофлоры, и численность ее увеличивается на 1–4 порядка без внесения коммерческих биопрепаратов. Активируется весь комплекс микроорганизмов, способный к деградации нефтепродуктов, как в аэробных, так и анаэробных условиях. Это, представляется важным, поскольку, доступность кислорода в грунтах ограничена, что тормозит окисление нефтепродуктов аэробной микрофлорой. Активизация эколого-трофических групп микробного сообщества привела к изменению гидрохимических показателей грунтовых вод. В частности увеличилось содержание аммония и перманганатной окисляемости, свидетельствующее о разрушении нефтепродуктов. В целом значительное снижение содержания нефтепродуктов (более чем в 100 раз) произошло при участии только аборигенной микрофлоры.

**Литература:**

1. Основы изучения загрязнения геологической среды легкими нефтепродуктами / Н.С. Огняник [и др.]. – Киев : [А.П.Н.], 2006. – 278 с.
2. Оценка загрязнения подземных вод на территории СФО нефтепродуктами / Ю.В. Макушин [и др.] // Разведка и охрана недр. – 2007. – № 7. – С. 45–48.
3. Анализ содержания ионов нитрата и аммония при биоремедиации грунтовой воды, загрязненной нефтепродуктами / И.В. Трусей [и др.] // Химия в интересах устойчивого развития. – 2017. – Т. 25. – № 2. – С. 205–211.
4. Atlas R. Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation // Marine Pollution Bulletin. – 1995. – № 31. – P. 178–182.
5. Биодеструкция нефти отдельными штаммами и принципы составления микробных консорциумов для очистки окружающей среды от углеводородов нефти / А.А. Ветрова [и др.] // Известия Тульского государственного университета Естественные науки. – 2013. – Вып. 2. – Ч. 1. – С. 241–257.
6. Hazen T.C. Biostimulation // In: Timmis K.N. (eds.) Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. – Springer, Berlin, Heidelberg, 2010. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-540-77587-4_355.
7. Biostimulation of Indigenous Microbial Community for Bioremediation of Petroleum Refinery Sludge / J. Sarkar [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2016. – V. 7. doi: 10.3389/fmicb.2016.01407.
8. Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil / M. Wu [et al.] // International Biodeterioration & Biodegradation. – 2016. – V. 107. – P. 158–164
9. Трусей И.В. Стимуляция in situ автохтонных психрофильных и мезофильных микроорганизмов для биоремедиации грунтов, загрязненных нефтепродуктами : дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08. – Иркутск : Иркутский государственный университет, 2018. – 178 с.
10. Crude oil at the Bemidji site: 25 years of monitoring, modeling, and understanding / H.I. Essaid [et al.] // Ground Water. – 2011. – V. 49. – № 5. – P. 706–26. doi: 10.1111/j.1745-6584.2009.00654.x.

References:

1. Basics of studying the geological environment pollution by light oil products / N.S. Ognjyanik [et al.]. – Kiev : [A.P.N.], 2006. – 278 p.
2. Assessment of groundwater pollution in the SFB territory by oil products / Yu.V. Makushin [et al.] // Exploration and protection of mineral resources. – 2007. – № 7. – P. 45–48.
3. Analysis of the nitrate and ammonium ions content at bioremediation of the ground water contaminated with oil products / I.V. Trusey [et al.] // Chemistry for sustainable development. – 2017. – V. 25. – № 2. – P. 205–211.
4. Atlas R. Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation // Marine Pollution Bulletin. – 1995. – № 31. – P. 178–182.
5. Biodestruction of oil by individual strains and the principles of microbial consortia for environmental purification of oil hydrocarbons / A.A. Wind [etc.] // Izvestia Tula State University Natural Sciences. – 2013. – Issue. 2. – Part 1. – P. 241–257.
6. Hazen T.C. Biostimulation // In: Timmis K.N. (eds.) Handbook of Hydrocarbon and Li-pid Microbiology. – Springer, Berlin, Heidelberg, 2010. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-540-77587-4_355.
7. Biostimulation of Indigenous Microbial Community for Bioremediation of Petroleum Refinery Sludge // In: Timmis K.N. (eds.) Handbook of Hydrocarbon and Li-pid Microbiology. Sarkar [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2016. – V. 7. doi: 10.3389/fmicb.2016.01407.
8. Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil / M. Wu [et al.] // International Biodeterioration & Biodegradation. – 2016. – V. 107. – P. 158–164
9. Cowards I.V. Stimulation in situ of the autochthonous psychophilic and mesophilic microorganisms for bioremediation of the soils contaminated with oil products : dis.... Cand. of Sciences: 03.02.08. – Irkutsk : Irkutsk State University, 2018. – 178 p.
10. Crude oil at the Bemidji site: 25 years of monitoring, modeling, and understanding / H.I. Essaid [et al.] // Ground Water. – 2011. – V. 49. – № 5. – P. 706–26. doi: 10.1111/j.1745-6584.2009.00654.x.