

ИССЛЕДОВАНИЯ СПОСОБНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ ДИСПЕРГИРОВАТЬ НЕФТЕПРОДУКТЫ

Хамроев О.Ж. Email: Khamroev1168@scientifictext.ru

Хамроев Обид Жонибаевич - кандидат технических наук, доцент,
кафедра механизации сельского хозяйства,
Каршинский инженерно-экономический институт,
г. Карши, Республика Узбекистан

Аннотация: в статье описан ускоренный метод оценки диспергирующей способности микроорганизмов, основанный на определении оптической плотности эмульсий нефтепродуктов, образующихся под действием микроорганизмов.

Предлагаемый способ рекомендуется для быстрой оценки способности микроорганизмов диспергировать нефтепродукты и может использоваться как в лабораторных исследованиях, так и для контроля промышленных препаратов микроорганизмов, предназначенных для очистки технических объектов от нефтяных загрязнений.

Ключевые слова: микроорганизмы, культуральная жидкость, нефтепродукты, диспергирующая способность, оптическая плотность, скорость роста микроорганизмов, единица активности.

STUDIES OF THE ABILITY OF MICROORGANISMS TO DISPERSE PETROLEUM PRODUCTS

Khamroev O.Zh.

Khamroev Obid Zhonibaevich - Candidate of Technical Sciences, Associate Professor,
DEPARTMENT OF AGRICULTURAL MECHANIZATION,
KARSHI ENGINEERING AND ECONOMICS INSTITUTE
KARSHI, REPUBLIC OF UZBEKISTAN

Abstract: the article describes an accelerated method for assessing the dispersing ability of microorganisms, based on the determination of the optical density of oil product emulsions formed under the influence of microorganisms.

The proposed method is recommended for a quick assessment of the ability of microorganisms to disperse oil products and can be used both in laboratory research and for the control of industrial preparations of microorganisms designed to clean technical objects from oil pollution.

Keywords: microorganisms, culture fluid, petroleum products, dispersing ability, optical density, microorganism growth rate, unit of activity.

УДК 631.11.004.67:665.66

Введение. При очистке объектов техники от нефтяных загрязнений важно правильно оценить способность микроорганизмов переводить нефтепродукты в диспергированное состояние, так как это является достаточным условием для удаления загрязнений в виде коллоидного раствора.

Актуальность. Существующие методы оценки поражаемости нефтепродуктов микроорганизмами основаны на определении скорости роста микроорганизмов на средах с нефтепродуктами [1]. Скорость роста зависит от диспергирующей способности микроорганизма лишь при условии, что последняя является лимитирующим фактором. Поэтому оценивать способность микроорганизмов диспергировать нефтепродукты по скорости роста на них нецелесообразно. Кроме того, процедура определения скорости роста, включающая культивирование микроорганизмов на среде с нефтепродуктами в отделение биомассы от остаточных нефтепродуктов, трудоёмка и продолжительна. Поэтому поиск новых методов определения способности микроорганизмов является весьма актуальной задачей.

Цель и задачи. Целью данной работы является разработка простой метод оценки диспергирующей способности микроорганизмов, основанный на определении оптической плотности эмульсий нефтепродуктов, образующихся под действием микроорганизмов.

В работе поставлены следующие задачи:

- разработать ускоренный метод оценки способности микроорганизмов диспергировать нефтепродукты;
- определить способность микроорганизмов усваивать остатки нефтепродуктов.

Материалы и методы. В качестве нефтепродукта использовано дизельное топливо фракции 240-360⁰ с содержанием н-алканов C₁₀ - C₃₂. Биомассу микроорганизмов получали в лабораторных условиях путём глубинного культивирования на минеральной среде, содержащей (г/л): NH₄H₂PO₄, 10,0, K₂HPO₄ 10,0, MgSO₄*7H₂O 0,7, микроэлементы (мг/л): FeSO₄*7H₂O 12,5, MnSO₄*5H₂O 12,5, ZnSO₄*7H₂O 12,5, NaCl 6,3. В среде устанавливали pH 5,0...5,5 при культивировании дрожжей, 6,8... 7,0 - при культивировании бактерий. Продолжительность культивирования 24 час при температуре, оптимальной для роста каждого штамма. По окончании культивирования биомассу отделяли от культуральной и отмывали от нефтепродуктов.

Для определения диспергирующей способности использовали суспензии биомассы микроорганизмов. Клетки дрожжей суспендировали в физиологическом растворе поваренной соли клетки бактерий – в растворе содержащем по 0,01% сульфата магния и хлорида кальция. Крупные частицы

(скопления клеток) отделяли фильтрацией суспензий через слой ваты. Затем устанавливали в суспензиях стандартную оптическую плотность 0,6 путем разбавления теми же солевыми растворами. Оптическую плотность измеряли на ФЭК 56М при длине волны 540 нм в кювете 5 мм.

Ход анализа: в сухую пробирку или колбу вносили дизельное топливо и стандартную суспензию микроорганизма в соотношении 1:50 (0,02 мл дизельного топлива и 1 мл суспензии микроорганизма). В первой контрольной пробе соединяли дизельное топливо и солевой раствор без микроорганизма в том же соотношении. Вторая контрольная проба содержала суспензию микроорганизма без дизельного топлива. Опытные и контрольные пробы ставили на круговую термостатируемую качалку типа «Certomat RHK», где перемешивание жидкости осуществляется за счет вращения стола. После инкубации определяли оптическую плотность. При высокой оптической плотности пробы разбавляли солевыми растворами в необходимой пропорции. Результаты оценивали как изменение оптической плотности в опытной пробе за вычетом контрольных величин:

$$\Delta D = (D_{\text{оп}}P - D_{K1} - D_{K2}) \cdot 2,$$

где: $D_{\text{оп}}$ - оптическая плотность опытной пробы по окончании инкубации;

D_{K1} и D_{K2} - то же в контрольных пробах;

P—фактор разведения;

2—фактор пересчета на стандартную кювету 10 мм.

Заключение, результаты, выводы. Мы исходили из того, что диспергирование нефтепродуктов приводит к повышению оптической плотности водных сред.

Диспергирование нефтепродуктов является результатом их механического дробления в нестационарной жидкости и стабилизации образовавшихся час-тиц под действием поверхностно-активных веществ (ПАВ). Микроорганизмы синтезируют ПАВ высокой активности. Поверхностно-активными свойствами обладают компоненты клеточных стенок и мембран микроорганизмов. Эти соединения и их фрагменты выделяются микроорганизмами в среду обмена [2].

Диспергирование нефтепродуктов в нестационарной среде под действием ПАВ микроорганизмов приводит к образованию эмульсий, имеющих более высокую оптическую плотность, чем исходная суспензия микроорганизмов. Величина прироста оптической плотности (ΔD) может служить критерием оценки диспергирующей способности микроорганизмов в отношении нефтепродуктов.

При оценке диспергирующей способности микроорганизмов стандартные условия должны включать физические параметры (продолжительность процесса, температуру, скорость вращения жидкости) и коллоидные характеристики (плотность суспензии микроорганизмов, объемное соотношение нефтепродукта и суспензии микроорганизмов, концентрацию синтетических ПАВ, если они используются).

При определении диспергирующей способности могут использоваться суспензии микроорганизмов с различной исходной оптической плотностью в интервале $D_0 = (0,2 \dots 1,2)$. В этом интервале величина определяемой способности микроорганизмов не зависит от величины D_0 , так как монотонно возрастает. Поэтому в качестве стандартной была выбрана оптическая плотность суспензии, равная 0,6 при измерении в кювете 5мм.

Важнейшим ограничительным параметром является продолжительность диспергирования.

Для объективной оценки диспергирующей способности микроорганизмов необходимо определить динамику изменения оптической плотности при воздействии микроорганизмов на нефтяные загрязнения.

Результаты исследований по определению динамики изменения оптической плотности в реакционной среде показывают, что увеличение оптической плотности среды происходит до тех пор, пока микроорганизмы не усвоят диспергированный субстрат, то есть в лаг- фазе. С началом окисления субстрата оптическая плотность среды снижается. В течение первых 1,5 час. происходит линейное увеличение оптической плотности. Этот период был выбран в качестве стандартной продолжительности опытов.

Оптимальная температура процесса диспергирования дизельного топлива составляет $30 \dots 34^{\circ} \text{C}$. В качестве стандартной выбрана температура 30°C .

На степень диспергирования дизельного топлива влияет также скорость вращения среды. Она возрастает с увеличением скорости вращения среды до 250 мин^{-1} , которая принята как стандартная.

Применение синтетических ПАВ как добавок при эмульгировании дизельного топлива позволяет значительно повысить результаты и тем самым увеличить точность определения. При сравнении двух ПАВ-сульфоуреида и пропинала - первый дал более стабильные и высокие результаты и далее использовался при определении диспергирующей способности микроорганизмов. Концентрация сульфоуреида – 0,2% к объему суспензии микроорганизмов. В этой же концентрации сульфоуреид вводили в контроль-1.

При наличии чувствительности микроорганизмов к сульфоуреиду в условиях опыта его необходимо также вводить в контроль-2. Опыты показали, что степень повышения оптической плотности эмульсии опытной пробе при добавлении сульфоуреида зависит от вида микроорганизма и условия опыта и возрастает от 2,5 до 10,5 раза.

При диспергировании дизельного топлива с помощью микроорганизмов в присутствии сульфоуреида эмульсин имеют высокую оптическую плотность, измерение которой возможно лишь при больших разведениях. Достаточно точные измерения возможны только в том случае, если изменение кратности разведения несущественно влияет на конечный результат. Разбавление коллоидного раствора приводит к увеличению степени дисперсности гидрофобной фазы. Как показали опыты, разбавление густых

эмульсий дизельного топлива до оптической плотности в пределах 0,3-0,6 позволяет измерить величину прироста оптической плотности (с учетом фактора разведения) с отклонением от средней величины не более 3,3%. При разбавлении до оптической плотности выше 0,6 получаются заниженные результаты, до оптической плотности ниже 0,3—завышенные.

Для оценки диспергирующей способности введена единица активности, соответствующая активности такой культуры микроорганизмов, которая в стандартных условиях (оптическая плотность суспензии микроорганизмов 0,6 при измерении в кювете 5 мм, соотношение объемов дизельного топлива и суспензии микроорганизмов 1:50, температура 30^oC, продолжительность процесса 1,5 час., скорость вращения жидкости 250 об/мин) вызывает увеличение оптической плотности эмульсии дизельного топлива на одну единицу при длине волны 540 нм в пересчете на стандартную кювету 10 мм.

Метод пригоден для сопоставления активности различных микроорганизмов, поскольку отличия в массовой в суспензиях равной оптической плотности незначительны. Для повышения точности анализов можно отнести полученные величины активности к массе микроорганизмов, используя калибровочные кривые или формулы зависимости оптической плотности суспензий микроорганизмов от их массовой концентрации в суспензиях.

Была проведена сравнительная оценка диспергирующей способности 15 культур микроорганизмов в стандартных условиях в присутствии сульфореида. Наиболее активные из них (см. таблицу) имеют более высокую диспергирующую способность и могут быть использованы при создании препаратов для очистки от нефтяных загрязнений.

Таблица 1. Диспергирующая способность микроорганизмов

Микроорганизмы		Диспергирующая способность
Дрожжи		
Candida guilliermondii	BCB-638	20,0
	BCB-569	17,5
Candida tropicalis	BCB-935	16,0
Бактерии		
Arthrobacter terregens	BCB-570	31,7
Mycococcus laktis	BCB-568	28,1
Acinetobakter oleovorun	BCB-567	22,1

Предлагаемый способ рекомендуется для быстрой оценки способности микроорганизмов диспергировать нефтепродукты и может использоваться как в лабораторных исследованиях, так и для контроля промышленных препаратов микроорганизмов, предназначенных для очистки технических объектов от нефтяных загрязнений.

Список литературы / References

1. Литвиненко С.Н. Защита нефтепродуктов от действия микроорганизмов. М.: Химия, 1977. 144 с.
2. Кислухина О.В., Калунянц К.А., Аленова Д.Ж. Ферментативный лизис микроорганизмов. Алма-Ата: Рауан, 1990. 200 с.