

БИОХИМИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ МЕТАНОЛЬНЫХ ВОД, ОБРАЗУЕМЫХ В ГАЗОВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Приведены результаты лабораторных опытов по нейтрализации (обезвреживанию) метанольных вод, образуемых в газовой промышленности, посредством внесения биокомпоста «Пикса» в соотношениях 1:1, 1,5:1 и 2:1 в водные растворы метанола различных концентраций (10, 20 и 30 %) и инкубирования при 30 °С. Эффективность нейтрализации метанольных вод оценивалась путем биохимического тестирования – анализа активности ферментов каталазы и дегидрогеназы микроорганизмов данного биокомпоста.



Введение

Метанольные воды как разновидность сточных вод образуются в газовой промышленности при использовании метанола в качестве ингибитора гидратообразования, т.е. для предотвращения образования гидратов углеводородных газов при их добыче, транспортировке и подземном хранении, а также в процессах первичной обработки газа [1]. Известно, что метанол относится к весьма опасным для человека веществам, так как он действует на нервную и сосудистую системы и обладает резко выраженным кумулятивным эффектом. Доза метанола, вызывающая интоксикацию организма при пероральном его попадании составляет 5-10 мл, а приводящая к летальному исходу – 30 мл [2]. Отравление при попадании на кожу метанола обычно происходит при одновременном вдыхании паров данного вещества. Однако при любом способе поступления метанола в организм типичны поражения зри-

Р.В. Галиулин*, доктор географических наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук
В.Н. Башкин, доктор биологических наук, начальник лаборатории, ООО «Газпром ВНИИ-ГАЗ»

тельного нерва и сетчатки глаза, отмечаемые как при острых, так и хронических интоксикациях. В связи с отмеченным токсическим воздействием метанола на человека оказалась не случайной разработка для данного вещества гигиенических нормативов в виде его предельно допустимой концентрации (**ПДК**) и предельно допустимого уровня (**ПДУ**), соблюдение которых позволяет обеспечить безопасную деятельность обслуживающего персонала на объектах газовой промышленности и контролировать геоэкологическую ситуацию на местности (*табл. 1*) [1, 3].

В производственной практике метанольные воды в небольших объемах собирают в специальные емкости закрытого или открытого типа, а в больших объемах – в прудах-накопителях или амбарах. Места хранения метанольных вод представляют собой объекты повышенного геоэкологического риска, что связано с испарением метанола в атмосферный воздух с открытой поверхности или прорыва этих хранилищ под действием как природных катаклизмов, так и аварийных сбросов и последующим попаданием в почву, поверхностные и грунтовые

*Адрес для корреспонденции: galiulin-rauf@rambler.ru

Таблица 1

Гигиенические нормативы для метанола — ПДК и ПДУ [1, 3]

Гигиенические нормативы	
показатель	значение
ПДК в воздухе рабочей зоны	5 мг/м ³
ПДК максимальная разовая в воздухе населенных мест	1 мг/м ³
ПДК среднесуточная в воздухе населенных мест	0,5 мг/м ³
ПДК в сточных водах	200 мг/л
ПДК в воде	3 мг/л
ПДУ на коже рук	0,02 мг/см ²

воды, а затем и в пищевые цепи. Так, в литературе описаны случаи высокого загрязнения метанолом водного объекта до 10,3 ПДК, а атмосферного воздуха населенного пункта до 39,6 максимальной разовой ПДК [4, 5]. Проблема нейтрализации (обезвреживания) метанольных вод в газовой промышленности будет стоять постоянно в связи с возрастающим потреблением метанола в качестве основного ингибитора гидратообразования, имеющего лучшее соотношение такого показателя как «цена — технологическая эффективность».

Анализ литературы показывает, что наиболее приемлемым способом, позволяющим обрабатывать большие объемы метанольных вод, является микробиологический путь трансформации метанола. Этот процесс вполне осуществим как с помощью биопрепаратов, получаемых на основе накопительной культуры метанолусваивающих бактерий (метилотрофов), так и других средств, содержащих последние в своем составе [6, 7]. К числу последних средств был отнесен биокомпост «Пикса», получаемый путем ферментации торфонавозной, торфопометной или другой смеси с последующим обогащением микроорганизмами (10^6 кл./г) и питательными веществами [8]. Оценка эффективности нейтрализации метанольных вод с помощью данного биокомпоста решается путем биохимического тестирования, т.е. анализа активности ферментов его микроорганизмов — каталазы и дегидрогеназы, принимающих непосредственное участие в трансформации метанола [2]. Цель данной работы состояла в биохимическом

тестировании эффективности нейтрализации метанольных вод, осуществляемой посредством биокомпоста «Пикса» в лабораторных условиях.

Материалы и методы исследования

В первой серии лабораторных опытов определяли активность ферментов микроорганизмов биокомпоста «Пикса», вносимого в 250 мл пластиковые емкости при трех его соотношениях — 1:1, 1,5:1 и 2:1 с дистиллированной водой (по массе), а во второй серии — с 10, 20 и 30 %-ми водными растворами метанола, соответственно, имитируя различную влажность нейтрализующего средства или образующиеся на практике метанольные воды с различной концентрацией вещества. Массу биокомпоста гомогенизировали и инкубировали в герметично закрытых емкостях в термостате при 30 °С, проводя ее пассивное аэрирование через каждые 3 дня. На 5, 15 и 25 сут отбирали отдельные пробы биокомпоста на анализ активности каталазы и дегидрогеназы, соответственно, газометрическим и спектрофотометрическим методами, выражаемые в мл O_2 /(мин·г) и мг 2,3,5-трифенилформазана/(г·сут) [9]. Статистическую обработку результатов анализа проводили при общепринятом для геоэкологических исследований доверительном интервале для среднего значения показателей различных вариантов, рассчитываемом при уровне значимости $P_1 = 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Как известно, метанол в качестве источника углерода и энергии усваивается бактериями, объединенными в группу метилотрофов. В числе таксономических признаков некоторых этих микроорганизмов, например, штаммов бактерии *Methylobionas methanica* можно назвать следующие: они являются строгими аэробами, температура их роста в пределах от 20 до 30 °С, тест на каталазу положительный и т.д. [7]. Что касается использованных для анализа активности каталазы и дегидрогеназы, то они катализируют трансформацию (окисление) метанола, как гидроксильного производного углеводородов, идущей по цепи метанол — формальдегид — муравьиная кислота — углекислый газ и вода. Следует отметить, что именно по такому механизму под каталитическим дей-

Р.А. Галиулина,
научный сотрудник,
ФГБУН Институт фундаментальной биологии
Российской академии наук

Таблица 2

Активность ферментов биокомпоста «Пикса» при инкубировании с дистиллированной водой при различных соотношениях

Вариант	Время инкубирования, сут		
	5	15	25
Активность каталазы, мл O₂/(мин·г)			
Биокомпост:вода, 1:1	9,1	6,3	2,8
То же, 1,5:1	4,2	3,4	3,3
То же, 2:1	3,8	1,9	1,0
Активность дегидрогеназы, мг 2,3,5-трифенилформазана/(г·сут)			
Биокомпост:вода, 1:1	1,3	1,5	0,6
То же, 1,5:1	0,5	0,6	0,7
То же, 2:1	0,4	0,4	0,4

Таблица 3

Активность каталазы биокомпоста «Пикса» при инкубировании с водными растворами метанола различных концентраций и соотношениях, мл O₂/(мин·г)

Вариант	Время инкубирования, сут		
	5	15	25
Биокомпост:10 %-й водный раствор метанола			
1:1	17,7	14,5	9,7
1,5:1	6,6	13,1	13,5
2:1	5,6	12,9	2,7
Биокомпост:20 %-й водный раствор метанола			
1:1	9,0	9,4	12,2
1,5:1	6,6	6,1	9,6
2:1	6,5	8,2	8,3
Биокомпост:30 %-й водный раствор метанола			
1:1	6,1	6,5	5,7
1,5:1	6,1	5,2	4,5
2:1	4,3	4,9	6,4

ствием каталазы и дегидрогеназы и микросомальных ферментов печени может происходить первоначальное окисление метанола в организме человека при его интоксикации [2]. При этом каталаза ускоряет окисление метанола, разрушая пероксид водорода до необходимого для этого процесса кислорода, а дегидрогеназа катализирует отщепление водорода от молекулы метанола (реакция дегидрирования). Участие пероксида водо-

рода в данной биохимической реакции связано с его образованием в процессе дыхания организмов и в результате окисления органических веществ [9]. Критерием трансформации метанола служит относительное повышение активности каталазы и дегидрогеназы, а о начале завершения этого процесса можно судить по снижению активности ферментов, что связано с происходящим уменьшением содержания метанола в инкубируемой среде и накоплением продуктов микробного метаболизма.

Опыты с биокомпостом, вносимым в дистиллированную воду в различных соотношениях (1:1, 1,5:1 и 2:1) показали, что максимальная активность каталазы и дегидрогеназы наблюдается на 5 и 15 сут при соотношении 1:1 (табл. 2). Как видно, с возрастанием влажности инкубируемой среды активность ферментов повышается, что свидетельствует об усилении функционирования микробиологической составляющей биокомпоста. Аналогичная ситуация складывалась и в случае с водными растворами метанола (табл. 3). Так, статистически доказанное максимальное значение активности каталазы наблюдалось на 5 и 25 сут при инкубировании биокомпоста, соответственно, с 10 и 20 %-ми водными растворами метанола в соотношении 1:1, что отражает наибольшую скорость трансформации данного вещества по сравнению с другими вариантами опыта. Об использовании метилотрофами метанола как источника углерода и энергии свидетельствует факт повышения активности каталазы в 1,9 раза по сравнению с опытом по инкубированию биокомпоста с дистиллированной водой при одинаковом соотношении веществ. Далее на 25 сут отмечалось резкое снижение активности каталазы (в среднем на 33 %), что характеризует начало завершения трансформации метанола. Активность каталазы биокомпоста с 10 %-м водным раствором метанола при соотношениях 1,5:1 и 2:1, а также с 20 и 30 %-ми водными растворами вещества почти при всех соотношениях имела тенденцию к нарастанию, однако не достигала того максимального уровня, который наблюдался на 5 сут при соотношении 1:1. Следует также отметить факт снижения скорости трансформации метанола при повышении его концентрации в испытуемых растворах как результат проявления в этих условиях токсического действия данного вещества на микрофлору, продуцирующую каталазу и достижения критического уров-

Таблица 4

Активность дегидрогеназы биокомпоста «Пикса» при инкубировании с водными растворами метанола различных концентраций и соотношениях, мг 2,3,5-трифенилформаза/(г·сут)

Вариант	Время инкубирования, сут		
	5	15	25
Биокомпост:10 %-й водный раствор метанола			
1:1	4,9	7,8	6,7
1,5:1	0,7	4,7	4,9
2:1	0,9	2,6	0,3
Биокомпост:20 %-й водный раствор метанола			
1:1	1,8	5,4	4,1
1,5:1	0,8	2,3	2,0
2:1	0,9	2,0	2,1
Биокомпост:30 %-й водный раствор метанола			
1:1	1,2	3,4	2,7
1,5:1	0,7	2,5	2,3
2:1	0,8	3,0	2,4

ня в процессе микробиологического превращения вещества.

Аналогичная реакция отмечалась и в случае с активностью дегидрогеназы. Так, статистически доказанная максимальная активность фермента наблюдалась на 15 сут для биокомпоста, инкубируемого с 10 и 20 %-ми водными растворами метанола при соотношении 1:1, по сравнению с другими вариантами опыта (табл. 4). Об использовании метилотрофами метанола как источника углерода и энергии свидетельствует

факт повышения активности дегидрогеназы в 4-11 раз по сравнению с опытом по инкубированию биокомпоста с дистиллированной водой при одинаковом соотношении веществ. На 25 сут происходило некоторое снижение активности дегидрогеназы биокомпоста (в среднем на 14 %). Активность дегидрогеназы биокомпоста с 10 %-м водным раствором метанола при соотношениях 1,5:1 и 2:1, а также с 20 и 30 %-ми водными растворами метанола при всех соотношениях имела тенденцию к нарастанию, однако не достигала тех максимальных уровней, которые наблюдались на 5, 15 и 25 сут при соотношении 1:1.

Заключение

Таким образом, результаты биохимического тестирования показали, что наибольшая активность ферментов проявляется при соотношении 1:1 биокомпоста с 10 и 20 %-ми водными растворами метанола, что должно составить практическую основу для нейтрализации метанольных вод, находящихся в специальных емкостях, прудах-накопителях или амбарах. Проведенные лабораторные исследования являются альтернативой полевым опытам, так как они позволили оперативно оценить эффективность нейтрализации биокомпостом метанольных вод, образуемых в газовой промышленности.

Литература

1. Горная энциклопедия. М.: Советская энциклопедия, 1987. Т. 3. 592 с.
2. Вредные вещества в промышленности. Органические вещества. Л.: Химия, 1976. Т. 1. 592 с.



3. Справочник предельно допустимых концентраций вредных веществ в пищевых продуктах и среде обитания. М.: Госкомсанэпиднадзор Российской Федерации, 1993. 142 с.
4. Ованесянц А.М. О загрязнении природной среды и радиационной обстановке на территории Российской Федерации в марте 2006 г. / А.М. Ованесянц, Т.А. Красильникова, И.Н. Сегида // Метеорология и гидрология. 2006. №6. С. 111-116.
5. Ованесянц А.М. О загрязнении природной среды и радиационной обстановке на территории Российской Федерации в январе 2006 г. / А.М. Ованесянц, Т.А. Красильникова, И.Н. Сегида // Метеорология и гидрология. 2006. №4. С. 109-114.
6. Мурзаков Б.Г. Очистка метанолсодержащих вод с помощью биологических препаратов / Б.Г. Мурзаков, Г.С. Аكوпова, П.А. Маркина // Газовая промышленность. 2005. №12. С. 58-60.
7. Мурзаков Б.Г. Выделение метилотрофных бактерий из микробиоценоза метанолсодержащих вод / Б.Г. Мурзаков, Г.С. Аكوпова, П.А. Маркина // Газовая промышленность. 2006. №3. С. 83-85.
8. Семенцов А.Ю. Применение суперкомпоста ПИКСА для реабилитации городских почв. Методические рекомендации. М.: ВНИИА, 2006. 32 с.
9. Хазиев Ф.Х. Ферментативная активность почв. Методическое пособие. М.: Наука, 1976. 180 с.

R.V. Galiulin, V.N. Bashkin, R.A. Galiulina

BIOCHEMICAL TESTING OF NEUTRALIZATION EFFECTIVENESS OF METHANOL WATER PRODUCED IN GAS INDUSTRY

Results of laboratory experiences on neutralization of methanol water produced in the gas industry by adding of Piksa biokompost in the ratio 1:1, 1.5:1 and 2:1 in methanol water solutions of various concentrations (10, 20 and 30 %) and incubation at 30°C are given. Effectiveness of methanol water neutralization was evaluated by biochemical testing such as analysis of catalase and dehydrogenase enzyme activity of the biocompost microorganisms.

Key words: gas industry, methanol water, biocompost, neutralization, effectiveness, biochemical testing, catalase and dehydrogenase activity.