

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЁННЫХ ЛУГОВЫХ ПОЧВ ЮГА ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF BIOREDEMEDIATION OF OIL-CONTAMINATED MEADOW SOILS OF THE SOUTH OF THE TYUMEN REGION

**A. Nikiforov
Yu. Sivkov**

Summary. The paper presents the results of field studies of various variants of bioremediation of oil-contaminated meadow soils. The effectiveness of the studied methods was evaluated both directly — by reducing the level of residual content of petroleum products, and indirectly-by assessing the phytotoxicity of selected samples in the laboratory.

As a result of the conducted research, the residual content of petroleum products was reduced depending on the applied scheme from 47.52 to 70.82%. The method of combination of a biological preparation and a sorbent (vermiculite) showed the greatest efficiency. However, when assessing phytotoxicity, the best results were shown by the site where the biopreparation was used in combination with potassium HUMATE.

Keywords: bioremediation, phytotoxicity, oil pollution, soil, humates.

Никифоров Артур Сергеевич

Старший преподаватель, Тюменский индустриальный университет
nikiforovas@tyuiu.ru

Сивков Юрий Викторович

К.б.н., доцент, Тюменский индустриальный университет
sivkovjv@tyuiu.ru

Аннотация. В работе представлены результаты полевых исследований различных вариантов биоремедиации нефтезагрязненных луговых почв. Эффективность изучаемых методов оценивалась как напрямую — по снижению уровня остаточного содержания нефтепродуктов, так и косвенно — по оценке фитотоксичности отобранных образцов в лабораторных условиях.

В результате проведенных исследований было достигнуто снижение остаточного содержания нефтепродуктов в зависимости от применяемой схемы от 47,52 до 70,82%. Наибольшую эффективность показал метод сочетания биопрепарата и сорбента (вермикулит). Однако при оценке фитотоксичности наилучшие результаты показал участок, где биопрепарат применялся в сочетании с гуматом калия.

Ключевые слова: биоремедиация, фитотоксичность, нефтезагрязнение, почва, гуматы.

Введение

Почва является материальной основой устойчивого экономического и социального развития и одним из самых ценных природных ресурсов для нашей страны. На сегодняшний день вовлечены в сельскохозяйственный оборот и интенсивно используются все черноземы юга Тюменской области, поэтому возникла необходимость изыскания почв, наиболее близких к ним по плодородию с учетом региональных особенностей. К таким почвам относятся луговые почвы, площадь которых составляет около 1 млн. га юга Тюменской области, или 40% от площади высокоплодородных почв [1].

В то же время, на территории Тюменской области располагаются объекты нефтегазовой отрасли, и разли-

вы нефти в процессе разведки, разработки, сбора, переработки, хранения и сбыта нефтепродуктов, аварий, неправильных операций и технического обслуживания оборудования могут вызвать серьёзные экологические проблемы для почвы, грунтовых вод и воздуха. Кроме того, за последние несколько десятилетий технологии нефтедобывающей отрасли развиваются с недостаточными темпами, соответствующие природоохранные меры и системы оценки несовершенны, устаревшие технологии борьбы с загрязнением и восстановления нарушенных земель приводят к большому количеству серьёзно загрязненных почв.

Потенциальная опасность, которую нефтяные углеводороды представляют для человека и окружающей среды, обуславливает актуальность исследования процессов биодеградаци и биотрансформации нефтеза-

грязненной почвы с целью разработки эффективных методов их биоремедиации до уровня, обеспечивающего их безопасное использование в сельскохозяйственных и других целях.

В ответ на растущую потребность реагировать на загрязнение окружающей среды в настоящее время разрабатывается множество новых технологий для очистки почвы, фильтрата, сточных вод и грунтовых вод, загрязненных нефтепродуктами, включая методы как *in situ*, так и *ex situ*. Технология биоремедиации имеет много преимуществ, таких как низкая стоимость, простота применения, экологичность, отсутствие вторичного загрязнения и высокая эффективность удаления некоторых загрязняющих веществ. Изучению технологии биоремедиации посвящены работы многих отечественных и зарубежных ученых.

Материалы и методы

Модельный эксперимент нефтеразлива заложен в июле 2017 года. Было выделено четыре реперных участка размерами 100×100 см. Предварительная подготовка включала в себя удаление растительности и дискование. На подготовленные участки нефть и рабочие водные суспензии биопрепаратов были внесены в почву методом дождевания и проведено рыхление для равномерного распределения их в слое 20 см.

Применяемые схемы опыта:

1. контроль;
2. биопрепарат + известь + сорбент (П10);
3. биопрепарат + известь + гумат К (П6);
4. биопрепарат + известь (П3).

В качестве биопрепарата был выбран «Бак-Верд» — биодеструктор нефтяных углеводородов, представляющий собой ассоциацию бактерий *Bacillus*, *Atherobacter*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*. В качестве сорбента был взят модифицированный вермикулит.

При планировании опытов предполагался одинаковый уровень загрязнения нефтью на всех исследуемых площадках, равный 5,0% от массы почвы. Дозу нефти для загрязнения рассчитывали с учетом объемной массы почв и плотности нефти на глубину промачивания 15 см. Эти дозы составили для луговой почвы 5,0 л/м². Контролем являлись чистая незагрязненная почва и нефтезагрязненная почва без применения добавок.

Отбор проб осуществлялся в соответствии с требованиями ГОСТ 17.4.4.02–2017. Лабораторные анализы отобранных образцов почв проводились в лаборатории кафедры техносферной безопасности Тюменского индустриального университета и лаборатории агрохимии

и физических свойств почв государственного аграрного университета Северного Зауралья в трёхкратной повторности по следующим показателям:

1. общий азот (ГОСТ 26107–84);
2. pH (ГОСТ 26483–85);
3. массовая доля органического вещества (ГОСТ 26213–91);
4. валовый фосфор и калий (ГОСТ 26261–84);
5. подвижные фосфор и калий (ГОСТ 26204–91);
6. содержание нефтепродуктов (ПНДФ 16.1:2.2.22–98).

В соответствии со сроками отбора проб, а также в последующие годы эксперимента производился высеv семян *Secale cereale* для оценки фитотоксичности почвы в разные периоды действия восстановительных комплексов.

В первый год фитотоксичность оценивалась в лабораторных условиях. Высеv семян эксперимента производился в почву, отобранную на 12 и 40 сутки от начала эксперимента. Для каждого участка отбиралось по 100 семян, которые были предварительно проверены визуально, чтобы убедиться, что они были однородного размера и не повреждены.

В ходе исследования экологическое состояние нефтезагрязненных почв оценивали по величине надземной биомассы растений, поскольку состояние растительного покрова в естественных природных условиях является важнейшим критерием, который, наряду с содержанием нефтепродуктов в почвах, диагностирует обратимость деградационных процессов и допустимую степень загрязнения почвы. Для оценки степени токсичности почвы в первом вегетационном сезоне в лабораторных условиях определяли показатели прорастания семян — всхожесть и энергию прорастания. Всхожесть семян рассчитывали как доля проросших семян, выраженная в процентах от общего количества семян, взятых для проращивания. Энергию прорастания вычисляли как число семян, проросших за первые трое суток, выраженное в процентах от общего количества семян, взятых для проращивания. Исследования проводились в трёхкратной повторности.

Результаты

Объектом исследования была луговая среднемошная малогумусная среднесуглинистая почва. Почвообразующими породами являются суглинки и глины. Проведённое изучение морфологических характеристик почвы показало наличие следующих горизонтов:

- ◆ горизонт А0 мощностью 0–0,03 м имеет органо-генный состав и в основном состоит из корней растений;

Таблица 1. Агрохимические показатели исследуемой почвы

№ п/п	Показатель	Значение	Погрешность
1	Азот общий	0,14%	-
2	Водородный показатель pH	6,5 ед.	± 0,1
3	Массовая доля органического углерода	6,08%	± 1,2
4	Фосфор валовой	0,01%	-
5	Калий валовой	0,07%	-
6	Нитратный азот	менее 2,8 мг/кг	-
7	Подвижный фосфор	60,49 мг/кг	± 7,26
8	Подвижный калий	60,53 мг/кг	± 9,08

Таблица 2. Данные по количеству нефтепродуктов в почве исследуемых участков в течение первого сезона экспериментов, мг/кг

Участки	Начало эксперимента	7 дней	12 дней	25 дней	40 дней
Контроль (нефтезагрязненная почва)	9090	7672	7224	6706	5666
П10 (биопрепарат+известь+сорбент)	9060	5276	5010	4446	2644
П6 (биопрепарат+известь+гумат)	8872	5254	5114	5050	4656
П3 (биопрепарат+известь)	8896	6830	6130	5732	4520

Таблица 3. Значения энергии прорастания и всхожести семян *Secale cereale* в лабораторных условиях, %

Сутки после раз- лива	Незагрязненный контроль	Загрязненный контроль	П10	П6	П3
12 суток	$\frac{92}{94}$	$\frac{1}{12}$	$\frac{5}{40}$	$\frac{14}{45}$	$\frac{10}{25}$
40 суток	$\frac{91}{92}$	$\frac{5}{16}$	$\frac{16}{52}$	$\frac{38}{46}$	$\frac{8}{28}$

- ♦ горизонт А1 (0,03–0,33 м) имеет черный цвет, комковатую структуру, плотный, по механическому составу — среднесуглинистый;
- ♦ горизонт АВ (0,33–0,50 м) имеет буровато-темно-серый цвет, комковатую структуру, уплотнен, по механическому составу — тяжелый суглинок;
- ♦ горизонт В1 (0,50–0,73 м) имеет белесовато-бурый цвет с охристыми пятнами железа, комковатую структуру, влажный, по механическому составу — средний суглинок с единичными заделками гумуса;
- ♦ горизонт В2 (0,73–1,10 м) имеет белесовато-бурый цвет с охристыми пятнами железа, комковатую структуру, сырой, по механическому составу — легкий суглинок;
- ♦ горизонт С (1,10–1,50 м) имеет буровато-светло-серый цвет, комковатую структуру с включениями железа и карбоната кальция, стоит вода, по механическому составу — глина.

Результаты оценки агрохимических характеристик исследуемой почвы представлены в таблице 1.

Из таблицы видно, что pH почвы составляет 6,5 ед., содержание подвижных форм фосфора и калия в пределах 60 мг/кг, нитратного азота менее 2,8 мг/кг.

Сводные данные по снижению нефтепродуктов в луговых почвах приведены в таблице 2.

Данные о влиянии нефтезагрязненных почв на результаты энергии прорастания и всхожести семян на исследуемых участках в лабораторных условиях суммированы в таблице 3.

Примечание: в числителе — значение энергии прорастания, в знаменателе — всхожести

Обсуждение

Как видно из результатов исследований в первый год эксперимента отмечается большая потеря углеводов в течение первой недели после внесения восстановительных комплексов — от 15,60 до 43,08% (таблица 2). Помимо положительного эффекта от действия восста-

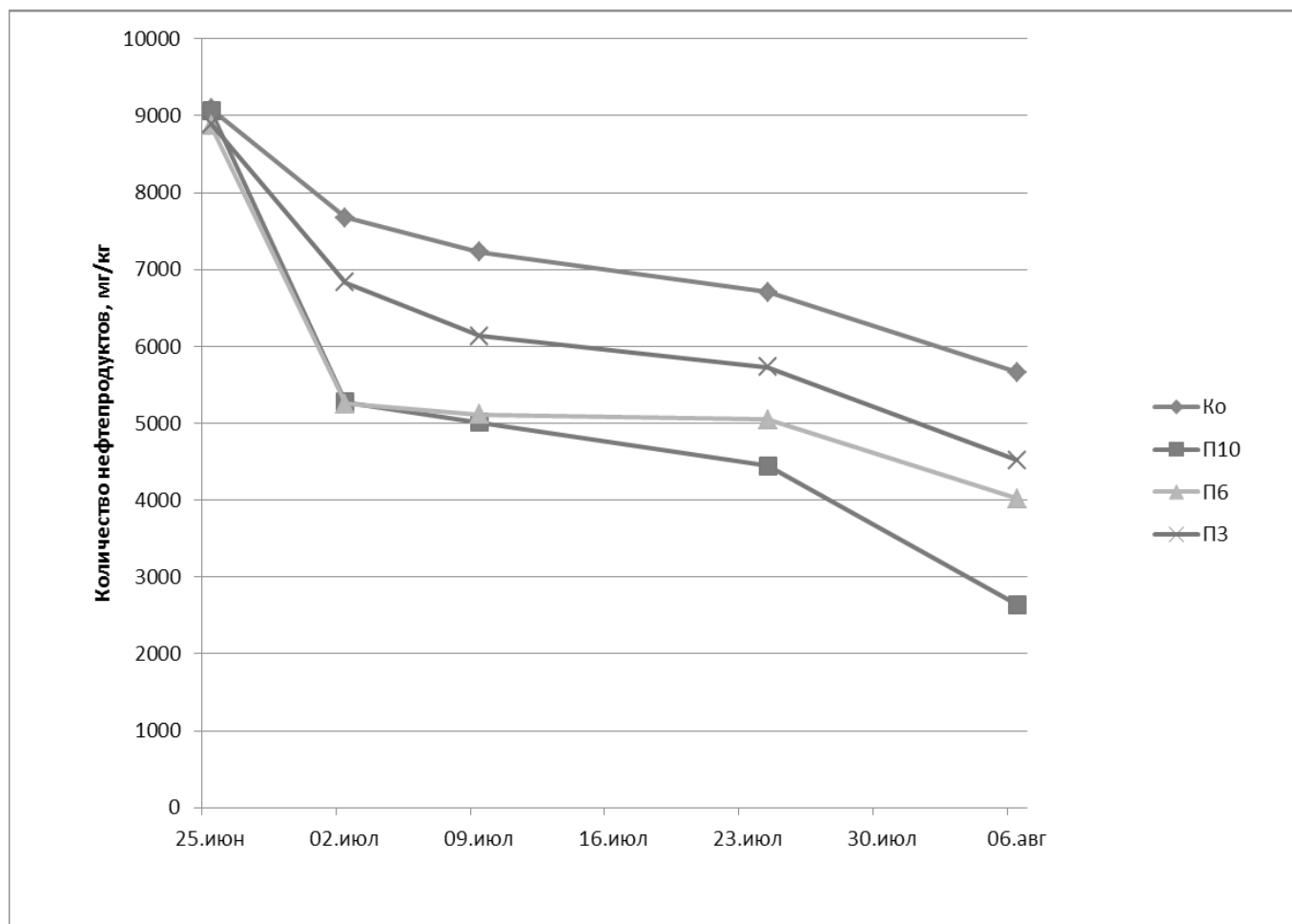


Рис. 1. Изменение количества нефтепродуктов в почве исследуемых участков в течение первого сезона экспериментов

новительного комплекса, на котором снижение нефтепродуктов было максимальное, на начальном этапе значительную роль играют процессы улетучивания легких фракций нефти. Важная роль процессов улетучивания легких фракций нефти подтверждается исследованиями других авторов [2, 3].

Основное различие между изучаемыми методами биоремедиации имело место в течение следующих 5 недель, когда биостимуляция приводила к значительному снижению нефтепродуктов (рисунок 1).

К концу первого сезона вегетации убыль углеводов составила 70,82% — на участке П10, 49,19% — на ПЗ и 47,52% — на площадке П6. На контрольной нефтезагрязненной площадке снижение составило лишь 37,36%. Эти результаты значительно выше результатов, полученных в работе Гамзаевой [4], где максимальная эффективность работы биопрепарата в сочетании с фиторемедиацией составила 31% в течение 12 месяцев в лабораторных условиях. Наилучшие

результаты на участке П10 связаны с применением сорбента в сочетании с методом биологической деструкции нефти.

Хотя загрязняющие вещества и их концентрацию в почве можно быстро охарактеризовать химическим методом, общее качество почвы не может быть отражено только химическим анализом. Одних химических данных недостаточно для оценки биологических эффектов, поскольку невозможно проанализировать все вещества и их синергетические эффекты, способствующие токсичности. Что касается экотоксичности загрязняющих веществ, биологический метод больше подходит для определения возможной опасности загрязняющих веществ в почве для экологии и окружающей среды [5, 6].

Результаты оценки фитотоксичности показали, что образцы почвы, отобранные через 12 суток после разлива с остаточным содержанием нефтепродуктов от 5010 до 7224 мг/кг, оказывают ингибирующее влияние на зер-

на ржи, снижая скорость прорастания семян и роста растений и смещая фазы развития ростков. Это характеризуется низкими значениями энергии прорастания — в течение первых трёх дней на нефтезагрязнённом контроле она составила только 1%, тогда как всхожесть составила 12%. Наибольшие значения всхожести наблюдались на почвах с участков П10 и П6–40 и 45% соответственно, однако энергия прорастания на участке П6 в 2,8 раза выше, чем на П10. Также необходимо отметить различия в параметрах ростков.

В образцах почвы, отобранной через 40 суток после нефтеразлива, остаточное содержание нефтепродуктов в почве варьировалось от 2644 мг/кг на участке П10 до 5666 мг/кг в нефтезагрязнённом контроле. Такое снижение уровня нефтезагрязнения положительно повлияло на показатели роста семян, особенно на энергию прорастания. На участке П6 данный показатель вырос с 14 до 38%, на участке П10 — с 5 до 16%. Наибольшее увеличение всхожести (с 40 до 52%) произошло на участке П10. На участках П3 и нефтезагрязнённом контроле достоверного изменения показателей роста выявлено не было.

Наименьшая фитотоксичность наблюдалась на участке П6. Это может быть связано с применением гумата калия. Антидотный характер влияния гуматов также был изучен в работах Дагурова с соавт. [7], Мадякина с соавт. [8], Кулагина с соавт. [9], Минниковой с соавт. [10]. В работе Stehlickova et al. [11] проводилась биодеградация фенола бактериальным штаммом *Cupriavidus metallidurans* в присутствии гумата калия. Достигнутые результаты показали, что гумат оказывает положительное влияние на биодеградацию фенола и уменьшает время инкубации, необходимое для удаления фенола. В присутствии гумата наблюдались более высокие скорости биодеградации и более интенсивный рост по сравнению с культивированием без его добавления, так как гуминовые кислоты действуют в качестве поверхностно-активных

веществ, помогая высвобождать ПАУ в водную среду и усиливая тем самым процессы микробного разложения.

Заключение

Биоремедиация является биотехнологическим подходом к реабилитации районов, деградированных загрязняющими веществами или иным образом поврежденных вследствие неправильного управления экосистемой.

В результате проведенных исследований установлено снижение остаточного содержания нефтепродуктов в зависимости от применяемой схемы с 47,52 до 70,82%. Наибольшую эффективность показал метод сочетания биопрепарата с сорбентом (вермикулит).

Тесты на энергию прорастания и всхожесть семян выявили значительную детоксикацию почвы в результате проведения биоремедиационных мероприятий. Результаты эксперимента подтверждают, что предлагаемые схемы восстановления нефтезагрязнённых луговых почв способствуют снижению концентрации нефти, а также очищению почвы от токсинов.

Применение гуматов помогает сорбировать избыток нефти (гуминовая фракция), буферизует наличие нерастворимых фракций и служит электронным челноком (гуминовые кислоты) и стимулирует рост микроорганизмов. Гуминовые вещества также улучшают некоторые другие свойства почвы, которые влияют на микроорганизмы, разлагающие нефть.

Предложенные в работе методы биоремедиации луговых почв, показали высокую эффективность и могут быть использованы при проведении биологической рекультивации нефтезагрязнённых луговых почв в условиях Юга Тюменской области.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ренев Е. П., Ерёмин Д. И., Ерёмин Д. В. Оценка основных показателей плодородия почв наиболее пригодных для расширения пахотных угодий в тюменской области. Достижения науки и техники АПК. 2017. Т. 31. № 4. С. 27–31.
2. Глазовская М. А., Пиковский Ю. И. Скорости самоочищения почв от нефти в различных природных зонах. // Природа, 1980. № 5. С. 118–119.
3. Fingas M., 1995. A literature review of the physics and predictive modeling of oil spill evaporation. J. Hazard. Mat. 42, 157–175.
4. Гамзаева Р. С. Применение биодеструктора Бак-Верад на дерново-подзолистой почве, загрязненной нефтепродуктами // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета, № 2 (55), 2019, С. 38–45.
5. Заболотских В. В., Васильев А. В., Танких С. Н. Экспресс-диагностика токсичности почв, загрязненных нефтепродуктами // Изв. Самарского научного центра РАН. 2012. Т. 14, № 1 (3). С. 734–738.
6. Петухов В. Н., Фомченков В. М., Чугунов В. А. и др. Биотестирование почвы и воды, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, с помощью растений // Прикл. биохимия и микробиология. 2000. Т. 36, № 6. С. 652–655.
7. Дагуров А. В., Стом Д. И., Вятчина О. Ф., Балаян А. Э., Кушнарв Д. Ф. О механизме антидотного действия гуматов по отношению к нефтепродуктам // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН, 2005, № 6(44). С. 143–146.

8. Мадякин В. Ф., Мадякина М. В., Ганеев И. Г., Сухова С. В. Технология детоксикации и рекультивации площадок нефтедобычи, выведенных из промышленного оборота // Вестник Казанского технологического университета, Том 15, № 24, 2012, С. 118–121.
9. Кулагин А. А., Ганеев И. Г., Сухова С. В., Зиганшин З. У. О безопасности использования технологии рекультивации нефтезагрязненных, нарушенных и деградированных земель с применением гуминовых препаратов // ИЗВЕСТИЯ УФИМСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РАН. 2015. № 4(1). С. 83–85.
10. Минникова Т. В., Колесников С. И., Денисова Т. В. Влияние азотных и гуминовых удобрений на биохимическое состояние нефтезагрязненного чернозема // Юг России: экология, развитие, № 2, 2019, С. 189–201.
11. Stehlickova, L., Svab, M., Wimmerova, L. and J. Kozler. 2009. Intensification of phenol biodegradation by humic substances. Intl Biodeterioration & Biodegradation. v.63, n. 7, p. 923–927.

© Никифоров Артур Сергеевич (nikiforovas@tyuiu.ru), Сивков Юрий Викторович (sivkovjv@tyuiu.ru).
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»



Тюменский индустриальный университет