

УДК 565.14

## РЕКУЛЬТИВАЦИЯ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ОТРАБОТАННЫМ МАШИНЫМ МАСЛОМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ *EISENIA FETIDA*, И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «БАЙКАЛ-ЭМ1»

Чачина С.Б.

ГОУ ВПО «Омский государственный технический университет», Омск, e-mail-ksb3@yandex.ru

Проведена оценка выживаемости дождевых червей *E.fetida* в почве, загрязненной отработанным машинным маслом в количестве 20-100 г/кг в течение четырех месяцев и изучена эффективность биоремедиации маслозагрязненной почвы при использовании дождевых червей *Eisenia fetida*, в присутствии микробиологического препарата Байкал-ЭМ. Высокие показатели разложения отработанного масла отмечены в присутствии червей *E. fetida*. Причем содержание масла в почве в этом случае снижалось на 60%. При содержании масла в почве в количестве 60-100 г/кг и введении в почву навозных червей (*Eisenia fetida*) концентрация масла снижалась в 4-6 раз. При внесении микробиологического препарата, содержащего бактерии, дрожжевые клетки и грибы, в дополнение к навозным червям, содержание масла в почве снижалось в 58 раз и составило 1,1 г/кг, т.е. эффективность рекультивации почвы в этом случае составляет 99,9%.

**Ключевые слова:** загрязнение почвы, отработанное масло, дождевые черви, *Eisenia fetida*, биологическая рекультивация

## REMEDIATION OF SOIL CONTAMINATED WITH SPENT LUBRICATING OIL USING *EISENIA FETIDA* EARTHWORMS, AND MICROBIAL DRUG «BAIKAL-AM»

Chachina S.B.

Omsk state technical University, Omsk, e-mail-ksb3@yandex.ru

The estimation of survival *E. fetida* earthworms in soil contaminated with spent lubricating oil in the amount of 20-100 g/kg for four months and studied the effectiveness of bioremediation massagrande the soil using the earthworm *Eisenia fetida* in the presence of microbial drug Baikal EM. High rates of decomposition of waste oil observed in the presence of earthworms *E. fetida*. Moreover, the oil content in the soil in this case was reduced by 60%. When the content of oil in soil in amounts of 60-100 g/kg, and injected into soil manure worms (*Eisenia fetida*) concentration of oil decreased in 4-6 times. When making microbial product containing bacteria, yeast cells and fungi, in addition to manure worms, are the oil content in the soil decreased in 58 times and amounted to 1.1 g/kg, i.e. the effectiveness of remediation in this case is 99.9%.

**Keywords:** soil pollution, waste oil, earthworms, *Eisenia fetida*, biological recultivation

*Lumbricus terrestris* и *E. fetida* могут легко выжить при концентрации 0,5% (5000 мг/кг<sup>-1</sup>) сырой нефти в почве в течение 15 дней (Safawat и Уивер, 2002). В почве, загрязненной 1.5% (15 000 мг/кг) сырой нефти, выживаемость *E. fetida* была снижена на 40%, в то время как *L. terrestris* выжили в течение более чем 15 дней. В противоположность, другие авторы сообщали, что концентрация 9500 УВ мг/кг сырой нефти, была причиной высокой смертности в *E. fetida*, *A. chlorotica* и *L. terrestris* в почве без навоза КРС (на 0,6%), как корма после 28 дней культивирования (Шефер и Filser, 2007). Однако, черви не выжили при концентрации керосина 2000 мг /кг -1,30,000 мг кг дизельного топлива 30,000 мг /кг в течение 14 дней.

Витфилд Аслунд с соавт. отмечают отсутствие острой токсичности нефтезагрязнённых почв для червей *E. fetida* и 90% выживаемость при низких концентрациях нефти, но нарушение их репродуктивной функции. Дорн с соавторами (2007) отметили высокую чувствительность *E. Fetida* к загрязнению почвы нефтью. Навозный червь

выживает в течение 90 дней в почве загрязненной низкими концентрациями нефти.

Еом, I.C. с соавт.(2007) изучали выживаемость навозного червя при внесении в почву нефти в концентрации 2600-2800 мг/кг в течение 28 дней. Дождевые черви могут быть использованы в биоремедиации нефтезагрязненных почв при умеренной концентрации УВ (<4000 мг/кг), не смертельной для червей. Дождевые черви могут быть применены на более поздних стадиях биоремедиации даже очень загрязненных участков, при низкой концентрации УВ и снизить содержание УВ до допустимого уровня. В результате возникает вопрос при какой концентрации нефтепродуктов навозные черви сохраняют способность к биоремедиации и как можно повысить выживаемость *E.Fetida* при внесении значительных концентраций нефти.

Цель исследования: оценка способности дождевых червей к ремедиации почв, загрязненных отработанным машинным маслом.

Нашей задачей является установление максимальной концентрации масел в почве, при которой сохраняется жизнедеятельность

тельность дождевых червей и сроки полной очистки почвы от нефтепродуктов.

### Материалы и методы исследования

#### Тест-субстрат

Тест субстратом для трех экспериментов была луговая почва стерильна для лабораторных испытаний «Питательный грунт Живая Земля (Terra Vita) Универсальный» Содержание гумуса 46 %, pH 5,9-6,0 и емкость поглощения 28 -40 мг-экв на 100 г почвы; азот ( $\text{NH}_4 + \text{NO}_3$ ) – 150 мг/л, фосфор ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) – 270 мг/л, калий ( $\text{K}_2\text{O}$ ) – 300 мг/л. Почва была загрязнена в эксперименте отработанным машинным маслом (начальные концентрации: 20 г/кг, конечные – 100 г/кг).

#### Вид дождевых червей

##### Навозный червь *Eisenia fetida*

Дождевой червь (навозный, компостный, земляной) является одним из восьми родов семейства люмбрицид и относится к классу кольчатых малощетинковых червей. Обитает во всех видах почв, чаще всего в навозе, парниках, на свалках. Распространение всемирное [Перель Т.С., 1975]. Длина тела 40-130 мм, ширина 2-4 мм. Число сегментов 80-120. Окраска тела красновато-фиолетовая, причем пигментация может быть очень яркой: красной различных оттенков, бурой, фиолетовой, оранжево-розовой. Характерная черта – наличие на теле поперечных полос желтого цвета, особенно заметных, когда червь растягивается. Головная лопасть эпиллобическая.

#### Микробиологический препарат

В качестве источника молочнокислых, азотфиксирующих и фотосинтезирующих бактерий использовали биопрепарат «Байкал – Эм» (Изготовлен ООО «НПО ЭМ-Центр», Россия) (Номер государственной регистрации 226-19,156-1) в количестве 5 мл на 1 кг субстрата при уровне загрязнения нефтепродуктами выше 50 г/кг почвы. Биопрепарат содержит большое количество анабиотических микроорганизмов, обитающих в почве: молочнокислые, азотфиксирующие, нитрифицирующие бактерии, актиномицеты, дрожжи и ферментирующие грибы.

#### Методики анализа содержания в почве нефтепродуктов и органических веществ

##### Подготовка образцов почвы

В полипропиленовые емкости, объемом 2 литра, на дно укладывали дренаж. В качестве дренажа использовался керамзит с диаметром частиц 2 см., на дренаж насыпали слой почвы толщиной 15 см (1 кг). В каждую емкость вносили по 10 половозрелых червей. На протяжении всего эксперимента почву увлажняли один раз в неделю, добавляя в каждую емкость по 100 мл дистиллированной воды. На протяжении всего эксперимента еженедельно в каждой емкости фиксировали изменение состояния и количество червей. При этом учитывались следующие показатели: общее количество всех червей, количество половозрелых особей, количество неполовозрелых особей, количество коконов в емкости, количество коконов на одного половозрелого червя, выход ювенильных особей червей из одного кокона, отношение количества половозрелых и неполовозрелых особей в каждой емкости и распределение червей по высоте слоя земляного субстрата.

Отбор проб из образцов почвы, загрязненных нефтью для анализа содержания нефти и органических веществ в образцах проводили по ГОСТ 28168, ГОСТ 17.4.3.01 и ГОСТ 17.4.4.02. Почву размалывали

в ступке. Из размолотой почвы отбирали пробу массой 3 – 5 г и дополнительно измельчали до размера частиц менее 0,3 мм и просеивали через сито с размерами ячеек 0.25 мм.

#### Определение содержания нефтепродуктов в загрязненных почвах

Для определения содержания автомобильного масла или нефтепродуктов в почве была использована методика, предложенная институтом экспериментальной метрологии [МУК 4.1.1956-05]. Данная методика основана на определении количества углеводородов, экстрагированных четыреххлористым углеродом из нефтезагрязненной почвы. Полученные результаты были обработаны с использованием рангового метода Фридмана с использованием лицензионной программы «Статистика»

#### Протоколы испытаний

Исследования проводились в течение 4 месяцев. В полипропиленовые сосуды, объемом 2 литра, на дно укладывали дренаж. Затем засыпали слой почвы толщиной 15 см (1 кг). В каждый вариант вносили по 10 половозрелых червей в каждый сосуд и поливали дистиллированной водой 1 раз в неделю по 100 мл. Червей подкармливали свежим тертым картофелем 1 раз в неделю по 5 гр. и увлажняли почву 2 раза в неделю по 100 мл дистиллированной воды. Разбор червей проводили через 14 дней вручную послойно. Червей инкубировали при температуре +15 °С в течение 4 месяцев. Процесс контролировали по следующим показателям: численность общая, численность половозрелых особей, Полученные результаты были обработаны с использованием рангового метода Фридмана. Протоколы испытаний представлены в таблице.

#### Результаты исследования и их обсуждение

При внесении концентраций масла от 20 до 100 г/кг отмечалась 93–100% выживаемость *E. fetida* и стабильный рост численности червей, но внесение микробиологического препарата при высоких концентрациях масла более 50 г/кг снизило выживаемость до 43–63%. В контрольном варианте и при внесении микробиологического препарата выживаемость дождевых червей была 100%.

Общая численность *E. fetida*. В варианте с концентрацией масла 20-40 г/кг как с микробиологическим препаратом, так и без него, общая численность увеличилась в 3 раза. При внесении в почву 60 г/кг масла общая численность увеличилась в 3 раза, а внесение микробиологического препарата вызвало гибель 50% половозрелых особей и численность достигла 10 экз./сосуд. В вариантах с внесением масла 80-100 г/кг общая численность составила 10-14 экз./сосуд, а при внесении микробиологического препарата снизилась до 8-9 экз./сосуд. Вероятно, микроорганизмы облегчали проникновение масла через пищеварительный тракт и усиливали токсический эффект. В контрольном варианте общая численность составила 76 экз./сосуд, а при внесении микробиологического препарата 203 экз./сосуд.

Таблица 1

Выживаемость, общая численность, общая продуктивность и индивидуальная продуктивность дождевых червей при различных концентрациях отработанного масла в почве. Протоколы испытаний

		Выживаемость %	Общая численность	Общая продуктивность	Индивидуальная продуктивность
1	контроль	100	76,66	14	0,9
2	Микробиологический препарат	100	203,33	16	0,99
3	почва, загрязненная маслом 20 г/кг	100	33,33	10,66	0,9
4	почва, загрязненная маслом 20 г/кг и микробиологический препарат	100	30,00	10	1
5	почва, загрязненная маслом 40 г/кг	100	33,67	10	0,9
6	почва, загрязненная маслом 40 г/кг и микробиологический препарат	100	21,33	5	0,5
7	почва, загрязненная маслом 60 г/кг	100	29,00	7	0,6
8	почва, загрязненная маслом 60 г/кг и микробиологический препарат	63	10,00	1,66	0,26
9	почва, загрязненная маслом 80 г/кг	93	11,67	2	0,24
10	почва, загрязненная маслом 80 г/кг и микробиологический препарат	43	8,33	2,3	0,54
11	почва, загрязненная маслом 100 г/кг	93	14,00	3,3	0,33
12	почва, загрязненная маслом 100 г/кг и микробиологический препарат	43	9,00	2	0,46
	Ранговый ДА и конкордация Кендалла	-	0,708	0,594	0,55

Общая продуктивность *E. fetida*. Максимальная общая продуктивность отмечена в контрольном варианте и при внесении микробиологического препарата. Высокая индивидуальная продуктивность (10 коконов/сосуд) отмечалась при внесении низких концентраций масла 20-40 г/кг, но внесение микробиологического препарата снизило откладку коконов в 2 раза. Увеличение концентрации масла вызвало снижение откладки коконов, а внесение микробиологического препарата усугубляло токсический эффект масла.

Индивидуальная продуктивность *E. fetida*. Высокая индивидуальная продуктивность 0,9 –1,0 коконов на червя отмечены в контрольном варианте, при внесении микробиологического препарата и при внесении низких концентраций масла 20-40 г/кг. Увеличение концентрации масла от 60 до 100 г/кг. Снизило откладку коконов до 0,24-0,46 коконов на червя, причем внесение микробиологического препарата незначительно увеличивало откладку коконов на 1 червя.

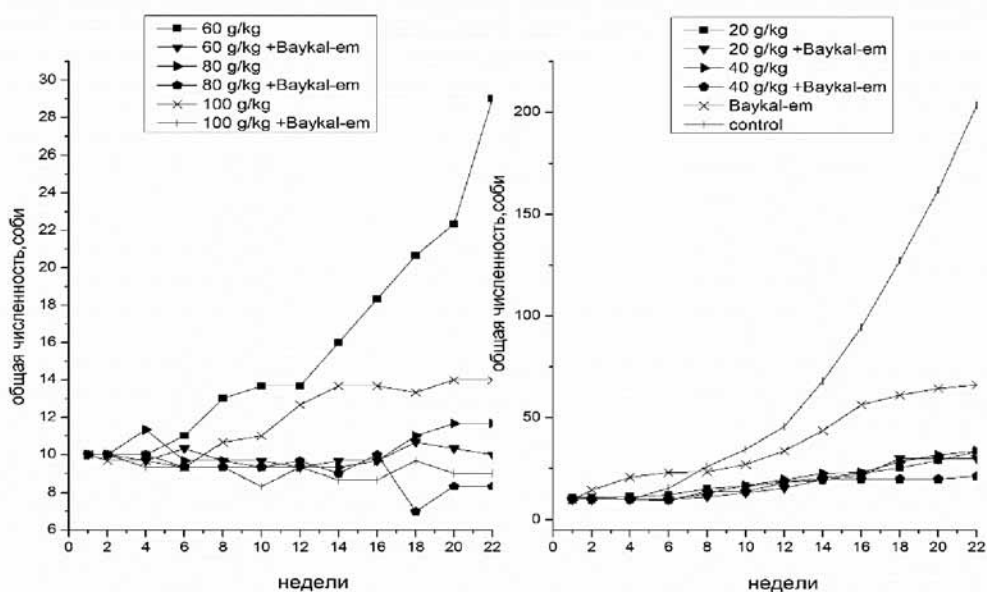


Рис. 1. Общая численность *E. fetida*

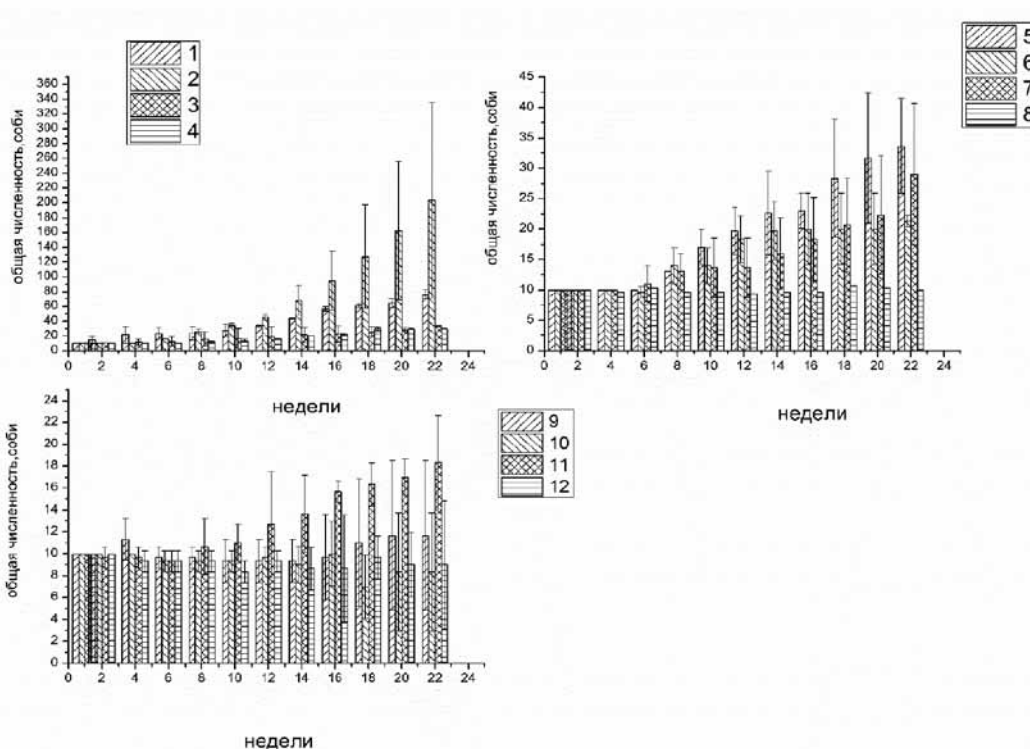


Рис. 2. Изменение общей численности *E. fetida* при культивировании в почвах, загрязненных отработанным автомобильным маслом ( $p < 0,05$ ) (с указанием величины абсолютной погрешности с достоверностью 95%). Цифры от 1 до 12 соответствуют вариантам эксперимента 1, указаны в табл.

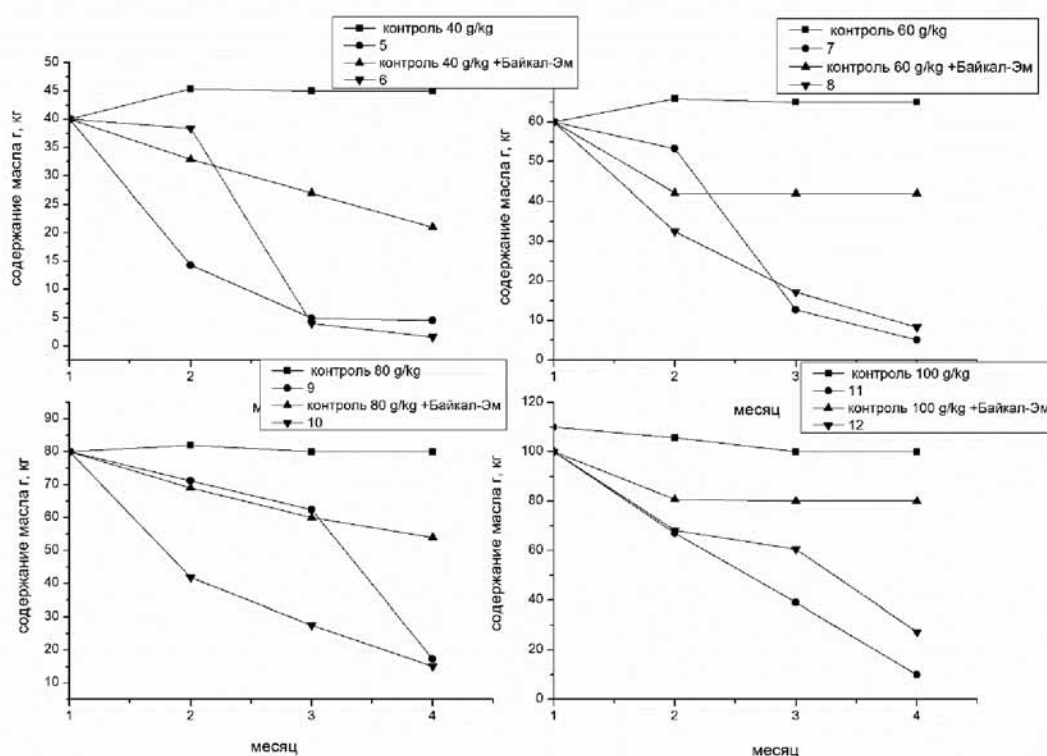


Рис. 3. Изменение концентрации отработанного автомобильного масла в процессе рекультивации

В контрольном образце (обр. 1) без внесения биопрепарата «Байкал – Эм-1» общая численность *E. fetida* увеличилась в 7,6 раз ( $p < 0,001$ ) и достигла 76 особи в одном образце, (относительная погрешность составила 10-20%, рис. 2а) а при внесении микробиологического препарата «Байкал Эм-1» общая численность червей возросла в 20 раз и составила 203 особи (относительная погрешность составила от 5 до 10%). При введении в состав почвы 20 г/кг отработанного автомобильного масла (обр.3 и 4) общая численность червей увеличилась в 3 раза и достигла 30 особей (относительная погрешность составила 10%). При внесении отработанного автомобильного масла 40 г/кг, общая численность червей увеличилась в 2 раза, а при внесении биопрепарата «Байкал – Эм-1» при том же содержании масла (обр. 6) в 2 раза (относительная погрешность 20-50%) ( $p < 0,05$ ).

При внесении в почву 60 – 100 г/кг отработанного автомобильного масла отмечалась 90% выживаемость червей, а при внесении микробиологического препарата «Байкал Эм-1» выживаемость снизилась до 43%. Для образцов 8,10, 12 содержание отработанного автомобильного масла в каж-

дом образце составляло 60-100 г/кг ( $p < 0,05$ ). Общая численность в варианте 8, при внесении отработанного автомобильного масла 60 г/кг увеличилась в 2 раза и составляла 20 особей на сосуд (рис. 1) (относительная погрешность составила 35%) ( $p < 0,05$ ). В варианте с концентрацией отработанного автомобильного масла 80 и 100 г/кг общая численность навозных червей оставалась неизменной (относительная погрешность 10 %) ( $p < 0,05$ ).

#### Разложение углеводов отработанного масла

Эффективность и скорость деградации масла зависит от концентрации его в почве. При внесении низких концентраций отработанного масла 20-40 г/кг почвы процесс рекультивации занимал 4 месяца, в ходе которого концентрация углеводов снижалась на 97-99%. Внесение микробиологического препарата оказывало существенное влияние на процесс деградации масла. В процессе вермикюльтивирования содержание нефти снижалось на 60-90%.

При внесении низких концентраций масла 20 г/кг эффективность разложения 75% (5,4 г/кг), а при внесении микробио-

логического препарата «Байкал-Эм» – 99% (0,2 г/кг). При внесении масла в почву 40 г/кг в варианте с навозным червем концентрация масла снизилась до 4,5 г/кг (эффективность 88%), а при внесении микробиологического препарата эффективность разложения углеводов составила 96% (1,6 г/кг). При внесении масла в почву 60 г/кг в варианте с навозным червем концентрация снизилась до 5,1 г/кг, эффективность – 91%, а при внесении микробиологического препарата эффективность составила 86% (8,3 г/кг). При внесении масла в почву 80 г/кг в варианте с навозным червем концентрация снизилась до 18 г/кг, эффективность – 80%, а при внесении микробиологического препарата содержание масла снизилось до 15 г/кг (эффективность 82%). При концентрации масла 100 г/кг в варианте с навозным червем концентрация масла снизилась до 10 г/кг, эффективность 90%, а при внесении микробиологического препарата содержание масла снизилось до 27 г/кг (эффективность 73%).

### Заключение

В нашем исследовании отмечена высокая выживаемость дождевых червей до 100% при низких концентрациях отработанного масла до 50 г/кг. Низкие концентрации масла 20-40 г/кг оказывают стимулирующее влияние на все виды дождевых червей, стимулируя откладку коконов. Внесение микробиологического препарата снижало выживаемость и репродуктивный потенциал *E. fetida* до 50%. При внесении концентраций масла от 20 до 100 г/кг от-

мечалась 80–100% выживаемость *E. fetida* и стабильный рост численности червей, но внесение микробиологического препарата при высоких концентрациях масла более 50 г/кг снизило выживаемость до 50–60%. При внесении в почву 60–100 г/кг масла общая численность увеличилась в 3 раза, а внесение микробиологического препарата вызвало гибель 50% половозрелых особей. Вероятно, микроорганизмы облегчали проникновение масла через пищеварительный тракт и усиливали токсический эффект. Эффективность и скорость деградации масла зависит от концентрации его в почве. При внесении низких концентраций отработанного масла 20-40 г/кг почвы процесс рекультивации занимал 4 месяца, в ходе которого концентрация углеводов снижалась на 97-99%. Внесение микробиологического препарата оказывало существенное влияние на процесс деградации масла. В процессе вермикультивирования содержание масла снижалось на 60-90%.

### Список литературы

1. Safawat H.S.H., Weaver R.W., 2002. Earthworms survival in oil contaminated soil. *Plant Soil* 240, 127–132.
2. Schaefer M., Filser J., 2007. The influence of earthworms and organic additives on the biodegradation of oil contaminated soil. *Appl. Soil Ecol.* 36, 53–62.
3. Whitfield Aslund, M. Comparison of earthworm responses to petroleum hydrocarbon exposure in aged field contaminated soil using traditional ecotoxicity endpoints and 1H NMR-based metabolomics / M. Whitfield Aslund, G.L. Stephenson, A. J. Simpson, M. J. Simpson // *Environmental Pollution*. – 2013. – № 182. – P. 263–268.
4. Eom I.C., Rast C.b, Veber A.M.b, Vasseur P.b. Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil (2007) *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67 (2), pp. 190-205.