

УДК 504.53.062.4:595.1:579.2

РЕКУЛЬТИВАЦИЯ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ОТРАБОТАННЫМ АВТОМОБИЛЬНЫМ МАСЛОМ, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ *DENDROBAENA VENETA* И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Чачина С.Б., Жигулин С.С.

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

Изучена эффективность биоремедиации в почве, загрязненной отработанным автомобильным маслом в количестве 40-100 г/кг, при использовании дождевых червей *D. veneta*, в присутствии бактерий *Pseudomonas*, азотфиксирующих бактерий *Azotobacter* и *Clostridium*, дрожжей *Saccharomyces*, грибов *Aspergillus* и *Penicillium*, *Actinomycetales*, входящих в состав биологических препаратов «Байкал ЭМ 1» и «Тамир». Показано, что после 18 недель выдержки образцов загрязненной маслом почвы, содержащей червей и бактерии, количество углеводов в почве снизилось на 60-77 %.

Ключевые слова: дождевые черви, *Dendrobaena veneta*, биоремедиация, биологическая рекультивация, удаление углеводов, загрязнение почвы

REMEDIATION OF SOILS CONTAMINATED WITH SPENT AUTOMOBILE ENGINE OIL USING EARTHWORM *DENDROBAENA* *VENETA* AND MICROBIOLOGICAL AGENTS

Chachina S.B., Zhigulin S.S.

Omsk State Technical University, Omsk, e-mail: ksb3@yandex.ru

We have studied the effectiveness of bioremediation of soil contaminated spent automobile engine oil in an amount of 40-100 g/kg, when using earthworm *D. veneta*, in the presence of the bacteria *Pseudomonas*, Azotobacter nitrogen-fixing bacteria *Azotobacter* and *Clostridium*, yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus* and *Penicillium*, *Actinomycetales*, included in the composition of biological agents «Baikal EM 1» and «Tamer». It was shown that after 18 weeks of exposure oily soil samples containing bacteria and worms, the amount of hydrocarbons in the soil decreased by 60-77 %.

Keywords: earthworms, *Dendrobaena veneta*, bioremediation, biological recultivation, removal of petroleum hydrocarbons, soil contamination

В результате добычи нефти на месторождениях при ее транспортировке неминуемо происходит загрязнение окружающей среды, по причине аварий и штатных ситуаций, приводящее к нарушению естественного баланса [1, 3].

Многие авторы в своих исследованиях доказали, что самостоятельное восстановление почвенного плодородия происходит достаточно неэффективно [2, 9].

Все попытки восстановления нарушенных почв только физическими и химическими методами в большинстве своём увенчиваются неудачами. Поэтому наиболее эффективным является комплексный подход к биоремедиации.

Биоремедиация при углеводородном загрязнении почвы часто предполагает добавление питательных веществ или микроорганизмов (биостимуляция и биоаугментация) [4].

Дождевые черви могут ускорить процесс удаления загрязняющих веществ из почвы. Они могут изменить химический состав и свойства почвы, смешивая её с органическими веществами, тем самым по-

зволяют микроорганизмам разлагать нефтепродукты, либо при помощи их роющего образа жизни позволяют почве насыщаться воздухом.

Наличие дождевых червей в загрязненных почвах указывает на то, что они могут выжить в широком спектре различных органических загрязнителей, таких как пестициды, гербициды, полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), по крайней мере, когда концентрации загрязняющих веществ не являются слишком высокими [5, 8, 7].

Hickman и Reid обнаружили в почве малых неполовозрелых дождевых червей *Dendrobaena veneta* и коконы при добавлении 16 различных ПАУ (500 мг/кг⁻¹) и 10 половозрелых червей кг⁻¹ после 84 дней [6].

Учитывая вышеизложенное, задачей настоящего исследования было изучение эффективности биоремедиации загрязненной почвы при использовании дождевых червей *D. veneta* в присутствии биопрепаратов «Байкал ЭМ 1» и «Тамир» в почве, загрязненной различными концентрациями автомобильного масла (от 40 г/кг до 100 г/кг).

Материалы и методы исследования

Виды дождевых червей

Для проведения вермиремии загрязненной почвой были выбраны дождевые черви *Dendrobaena veneta*. В эксперименте использовались только половозрелые особи. Взрослые особи были приобретены в ЛПХ Ермак (Россия, г. Саратов). Средняя масса червей составляла 0,9-1,42 г.

Микробиологический препарат

В качестве источника молочнокислых, азотфиксирующих бактерий использовали биопрепарат «Байкал ЭМ 1» (изготовлен ООО «НПО ЭМ-Центр», Россия (номер государственной регистрации 226-19.156-1)), биопрепарат «Тамир» (изготовлен ООО «НПО ЭМ-Центр», Россия (номер государственной регистрации 77.01.03.929)), в количестве 5 мл на 1 кг субстрата при уровне загрязнения нефтепродуктами свыше 40 г/кг почвы. Биопрепараты содержат большое количество микроорганизмов, обитающих в почве: молочнокислые, азотфиксирующие, нитрифицирующие бактерии, актиномицеты, дрожжи и ферментирующие грибы.

Биологически активный препарат «Тамир» (серии ЭМ) предназначен для утилизации органических отходов. Применение его широко: от возрождения плодородия почвы до утилизации органических отходов. Препарат «Тамир» – это живое сообщество 86 полезных почвенных микроорганизмов с усиленной способностью к переработке и ферментации органических отходов.

Применение ЭМ-препаратов позволяет решать проблемы загрязнения окружающей среды и других негативных последствий индустриализации естественными методами. ЭМ-препараты существенно улучшают экологическое состояние биосферы.

Почвенный субстрат

Тест-субстратом для трех экспериментов была черноземная почва ЗАО «СибНИИСХоз». Почва была загрязнена в эксперименте отработанным автомобильным маслом (минимальная концентрация – 40 г/кг, максимальная – 100 г/кг).

Состав субстрата: содержание гумуса – 6,5%, азот общий – 0,3%, фосфор валовый – 1980 мг/кг, фосфор подвижный – 92 мг/кг, калий обменный – 420 г/кг, pH – 6,45.

Всего было подготовлено 2 серии образцов загрязненных почв.

В образцах серии 1, для получения образцов загрязненных почв, в почву было внесено отработанное автомобильное масло в количестве 40-100 г/кг с внесением червей *D. veneta* и микробиологического препарата «Байкал ЭМ 1».

В образцах серии 2, для получения образцов загрязненных почв, в почву было внесено отработанное автомобильное масло в количестве 40-100 г/кг с внесением червей *D. veneta* и микробиологического препарата «Тамир».

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. Сосуды с почвой накрывали хлопчатобумажной тканью. Червей под-

кармливали свежим тертым картофелем по 5 г 1 раз в неделю. Червей инкубировали при температуре 15°C в течение 5 месяцев. Инкубирование экспериментальных образцов загрязненных почв с введенными червями и добавлением микробиологического препарата, а также контрольных образцов почвы проводилось в течение 7 месяцев – с ноября 2014 г. по май 2015 г.

Определение содержания нефтепродуктов и органических веществ в загрязненных инкубированных почвах.

Отбор проб из образцов почвы, загрязненных нефтепродуктами, для анализа содержания нефтепродуктов и органических веществ в образцах проводили по ГОСТ Р 54039-2010. Качество почв.

Экспресс-метод спектроскопии в ближней инфракрасной области для определения содержания нефтепродуктов.

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.

Для определения содержания нефтепродуктов в почве была использована методика, предложенная институтом экспериментальной метрологии. Данная методика основана на определении количества углеродов, экстрагированных четыреххлористым углеродом из загрязненной почвы. Полученный элюат заливали в кювету ИК-спектрофотометра ИКН-025 и определяли количество нефтепродуктов в элюате при длине волны 3,42 мкм.

Полученные результаты были обработаны с использованием рангового метода Фишера с использованием лицензионной программы «Статистика».

Результаты исследования и их обсуждение

Изменение количества червей при внесении различных концентраций масла.

Исследование выживаемости

*Общая численность *Dendrobaena veneta* и микробиологический препарат «Байкал ЭМ 1».*

В контрольном варианте общая численность *D. veneta* увеличилась в 2,3 раза, а при внесении биопрепарата «Байкал ЭМ 1» в 3,2 раза. В варианте с концентрацией масла 40 г/кг и микробиологическим препаратом «Байкал ЭМ 1» выживаемость червей составила 60% на протяжении 16 недель исследования, и общая численность составила 6 экз/сосуд. В варианте с концентрацией масла 60 г/кг и биопрепаратом выживаемость червей составила 100% на 16 неделе исследования, и общая численность составила 11 экз/сосуд. В варианте с концентрацией масла 80 г/кг и биопрепаратом выживаемость червей составила 90% на 16 неделе исследования, и общая численность составила 9 экз/сосуд. А при концентрации масла 100 г/кг выживаемость на 16 неделе составила 70%, общая численность составила 7 экз/сосуд.

Изменение общей численности *D. veneta* в процессе инкубирования загрязненных маслом почв с использованием микробиологических препаратов через 18 недель инкубирования

№ п/п	Концентрация масла, г/кг	Выживаемость, %	Общая численность
1	Контроль	100	22,9
2	Байкал	100	32
3	Тамир	100	27,9
4	40 г/кг + Байкал	50	5
5	60 г/кг + Байкал	100	11
6	80 г/кг + Байкал	90	9
7	100 г/кг + Байкал	60	7
8	40 г/кг + Тамир	80	8
9	60 г/кг + Тамир	50	6
10	80 г/кг + Тамир	90	10
11	100 г/кг + Тамир	70	8

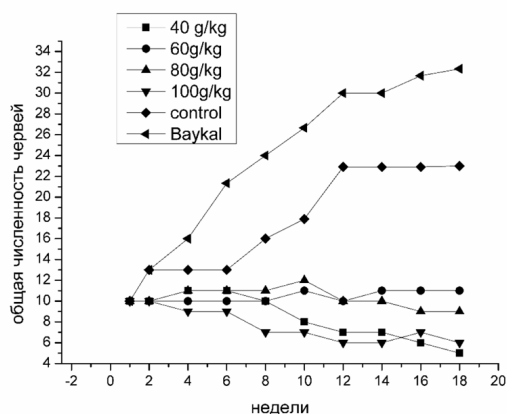


Рис. 1. Общая численность *Dendrobaena veneta* и микробиологический препарат «Байкал ЭМ 1»

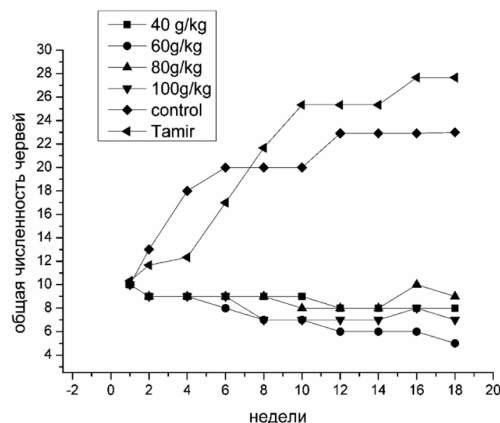


Рис. 2. Общая численность *Dendrobaena veneta* и микробиологический препарат «Тамир»

Общая численность *Dendrobaena veneta* и микробиологический препарат «Тамир».

В контрольном варианте общая численность *D. veneta* увеличилась в 2,3 раза, а при внесении биопрепарата «Тамир» в 2,7 раза. В варианте с концентрацией масла 40 г/кг и микробиологическим препаратом «Тамир» выживаемость червей составила 80 % на протяжении 16 недель исследования, и общая численность составила 8 экз/сосуд. В варианте с концентрацией масла 60 г/кг и биопрепаратом выживаемость червей составила 60 % на 16 неделе исследования, и общая численность составила 6 экз/сосуд. В варианте с концентрацией масла 80 г/кг и биопрепаратом выживаемость червей составила 100 % на 16 неделе исследования, и общая численность составила 10 экз/сосуд. А при концентрации масла 100 г/кг выживаемость на 16 неделе составила 80 %, и общая численность составила 8 экз/сосуд.

Разложение углеводов нефтепродуктов

На рис. 3 приведены зависимости изменения количества масла в загрязненных образцах почвы, содержащих червей *D. veneta* и биопрепараты «Байкал ЭМ 1», «Тамир», от времени инкубирования образцов при температуре 15-17 °С.

Максимальное время инкубирования составляло 18 недель. Содержание углеводов в почве определяли колориметрическим методом ежемесячно. Как видно из рис. 3, для загрязненных образцов с концентрацией масла 40 г/кг, содержащих червей, биоремедиация почвы протекает более интенсивно при внесении биопрепарата «Тамир».

При внесении в почву масла в количестве 40 г/кг процесс рекультивации занимал 5 месяцев, в ходе которого концентрация углеводов снижалась на 10 %. Внесение биопрепаратов «Байкал ЭМ 1»

и «Тамир» оказывало существенное влияние на процесс разрушения углеводородов нефтепродуктов. Так, при добавлении биопрепарата «Байкал ЭМ 1», концентрация углеводородов в почве снижалась на 42%, а при добавлении биопрепарата «Тамир» – на 38%.

В контрольном варианте при внесении масла в почву в количестве 40 г/кг значительного снижения концентрации углеводородов в почве не наблюдалось. В течение 4 месяцев содержание нефтепродуктов в почве снизилось до 35 г/кг. В варианте с внесением червей *D. veneta* и биопрепарата «Байкал ЭМ 1» концентрация масла в почве снизилась в 4 раза до 11,62 г/кг (эффективность 74%). При введении в почву биопрепарата «Тамир» и червей *D. veneta* концентрация масла в почве снизилась в 3 раза до 0,84 г/кг (эффективность 98%).

В контрольном варианте при внесении масла в почву в количестве 60 г/кг значительного снижения концентрации

углеводородов в почве не наблюдалось. В течение пяти месяцев содержание нефтепродуктов в почве снизилось до 54 г/кг. При введении в почву биопрепарата «Байкал ЭМ 1» и червей *D. veneta* концентрация масла в почве снизилась в 2,8 раза до 24,6 г/кг (эффективность 62%). При введении в почву биопрепарата «Тамир» и *D. veneta* концентрация масла в почве снизилась в 5,8 раз до 12,11 г/кг (эффективность 81%).

В контрольном варианте при внесении масла в почву в количестве 80 г/кг значительного снижения концентрации углеводородов в почве не наблюдалось. В течение четырех месяцев содержание нефтепродуктов в почве снизилось до 70 г/кг. При введении в почву биопрепарата «Байкал ЭМ 1» и червей *D. veneta* концентрация масла в почве снизилась в 3,8 раза до 23,7 г/кг (эффективность 70%). При введении в почву биопрепарата «Тамир» и червей *D. veneta* концентрация масла в почве снизилась в 3 раза до 29,7 г/кг (эффективность 63%).

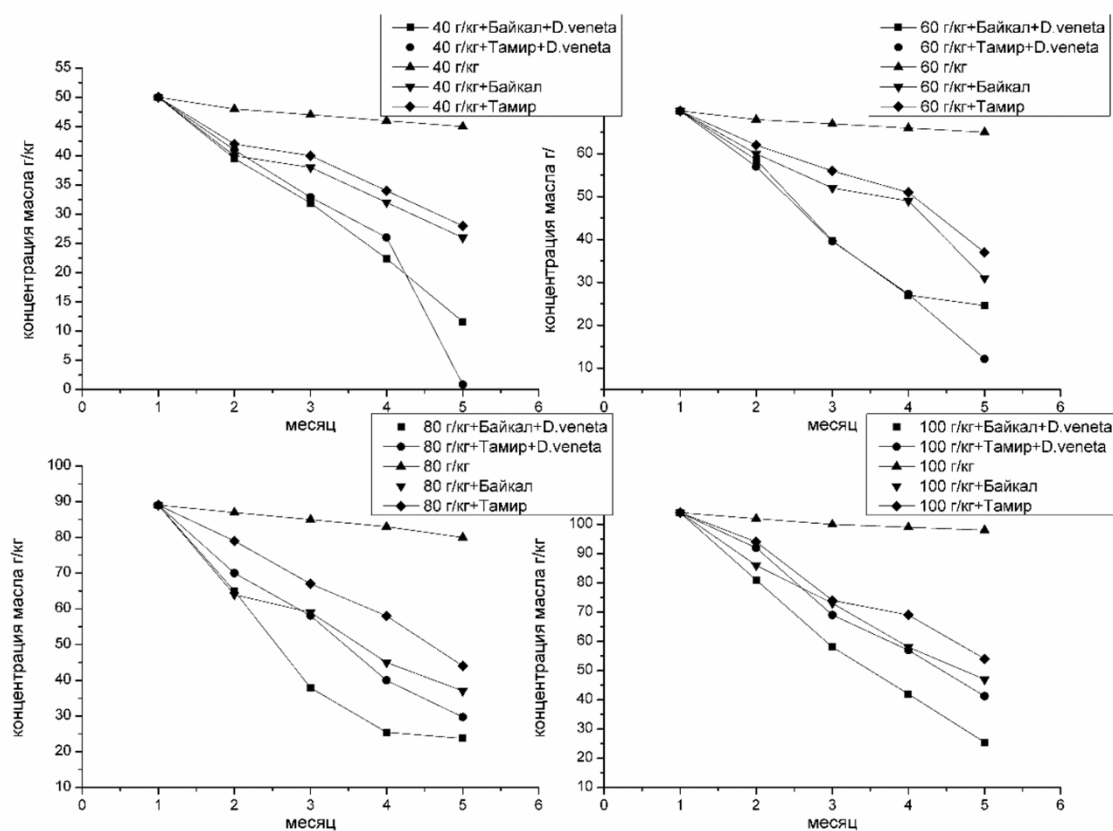


Рис. 3. Изменение концентрации масла в процессе вермикюльтивирования

В контрольном варианте при внесении масла в почву в количестве 100 г/кг значительного снижения концентрации углеводородов в почве не наблюдалось. В течение пяти месяцев содержание нефтепродуктов в почве снизилось до 88 г/кг. При введении в почву биопрепарата «Байкал ЭМ 1» и червей *D. veneta* концентрация масла в почве снизилась в 4,1 раза до 25,44 г/кг (эффективность 74%). При введении в почву биопрепарата «Тамир» и червей *D. veneta* концентрация масла в почве снизилась в 2,5 раза до 41,28 г/кг (эффективность 58%).

Заключение

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 углеводородов снижалась на 97-99%. Внесение микробиологического препарата оказывало существенное влияние на процесс деградации масла. В процессе вермикюльтивирования содержание масла снижалось на 60-90%. Наибольшая эффективность разложения отработанного автомобильного масла в почве отмечена при совместном использовании *D. venata* и биопрепарата «Тамир» (эффективность 60-90%).

Список литературы

1. Волостнов Д.В. Предварительная оценка интегрального ущерба окружающей среде при добыче нефти и газа на предприятиях АО Томскнефть / Д.В. Волостнов // Чтения памяти Ю.А. Львова: II Межрегион. эколог. конф. – Томск, 1998. – С. 91-93.
2. Хазиев Ф.Х. Изменение биохимических процессов в почвах при нефтяном загрязнении и активация разложения нефти / Ф.Х. Хазиев, Ф.Ф. Фатхиев // Агрохимия. – 1981. – № 10. – С. 102-111.
3. Assessment of the acute toxicity of crude oils in soils using earthworms, Microtox(R) and plants / P. B. Dorn [et al] // Chemosphere. – 1998. Vol. 37. – P. 845-860.
4. Atlas R.M. Bioremediation of petroleum pollutants / R.M. Atlas // International Biodeterioration & Biodegradation. – 1995. Vol. 35. – P. 317-327.
5. Bioaugmentation and biostimulation effects on PAH dissipation and soil ecotoxicity under controlled conditions / H. Hamdi [et al.] // Soil Biol. Biochem. – 2007. Vol. 39. – P. 1926-1935.
6. Hickman Z.A. The co-application of earthworms (*Dendrobaena veneta*) and compost to increase hydrocarbon losses from diesel contaminated soils / Z.A. Hickman, B.J. Reid // Environ. Int. – 2008. Vol. 34. – P. 1016-1022.
7. Johnsen A.R. Diffuse PAH contamination of surface soils: environmental occurrence, bioavailability, and microbial degradation / A.R. Johnsen, U. Karlson // Appl. Microbiol. Biot. – 2007. Vol. 76. – P. 533-543.
8. Juwarkar A.A. A comprehensive overview of elements in bioremediation / Juwarkar, A. A., Singh S. K., Mudhoo A. // Rev. Environ. Sci. Biotechnol. – 2010. Vol. 9. – P. 215-288.
9. Margesin R. Biological decontamination of oil spills in cold environments / Margesin R., Schinner F. // J. Chem. Technol. Biotechnol. – 1999. Vol. 74. – P. 381-389.