

УДК 504.53.062.4:595.1:579.2

РЕКУЛЬТИВАЦИЯ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ОТРАБОТАННЫМ МАШИНЫМ МАСЛОМ, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ EISENIA FETIDA И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Чачина С.Б., Лапочкина А.С.

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

Изучена эффективность биоремедиации в почве, загрязненной отработанным машинным маслом в количестве 40-100 г/кг, при использовании дождевых червей *E. fetida*, в присутствии бактерий *Pseudomonas*, азотифицирующих 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 бактерий, количество углеводов в почве снизилось на 60-77%.

Ключевые слова: дождевые черви, *Eisenia fetida*, биоремедиация, биологическая рекультивация, удаление нефтяных углеводов, загрязнение почвы

REMEDIATION OF SOILS CONTAMINATED WITH SPENT ENGINE OIL USING EARTHWORM EISENIA FETIDA AND MICROBIOLOGICAL AGENTS

Chachina S.B., Lapochkina A.S.

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

We have studied the effectiveness of bioremediation of soil contaminated spent engine oil in an amount of 40-100 g/kg, when using earthworm *E. fetida*, 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 «Tамиr». 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, *Eisenia fetida*, bioremediation, biological recultivation, removal of petroleum hydrocarbons, soil contamination

Более перспективным методом рекультивации нефтезагрязненных почв является метод биоремедиации, основанный на использовании микроорганизмов, способных утилизировать углеводороды в процессе своей жизнедеятельности [6]. Как показали исследования последних лет, более высокая эффективность биоремедиации почвы может быть достигнута при введении в загрязненную почву дождевых червей, т.е. при использовании в этом случае метода вермиремедиации [3]. Дождевые черви ускоряют процесс удаления загрязняющих веществ из почвы и изменяют физические и химические свойства почвы, смешивая ее с органическим веществом и улучшая аэрацию почвы, что делают загрязняющие вещества доступными для микроорганизмов.

Schaefer и соавт. исследовали влияние дождевых червей 3 видов (*L. terrestris*, *Allolobophora chlorotica* и *E. fetida*) на микробное сообщество почвы, загрязненной нефтью (10 000 мг/кг) в течение 28 дней. Показано, что в процессе эксперимента концентрация микробной биомассы повышалась и наблюдались изменения таксономических групп микроорганизмов. Концен-

трация углеводов при этом снижалась: на 30-42% в образцах с *L. terrestris*, на 31-37% в образцах с *E. fetida* и на 17-18% в образцах с *A. chlorotica* (в контрольных образцах снижение содержания углеводов составляло 9-17%) [5].

Было установлено, что *Lumbricus terrestris* и *E. fetida* выживают в почве, загрязненной сырой нефтью с концентрацией 5 г/кг в течение 15 дней. При увеличении содержания сырой нефти в почве до 15 г/кг, выживаемость *E. fetida* в течение 15 дней снижалась на 40% [4].

Whitfield Aslund и соавт. отмечают, что при содержании нефти в почве, превышающем 0,5-25,0 г/кг, смертность дождевых червей *E. fetida* не превышает 10%, однако при этом фиксируется нарушение их репродуктивной функции [1].

Eom, I.C. и соавт. изучали выживаемость *E. fetida* при внесении в почву нефти в количестве 2,6-2,8 г/кг. Выживаемость дождевых червей *E. fetida* в нефтезагрязненной почве составляла 18% в течение 28 дней нахождения в почве и 8% – в течение 56 дней. При этом авторами отмечено, что жизнеспособность молодых червей была выше, чем жизнеспособность взрослых червей и со-

ставляла 74% после нахождения в нефтезагрязненной почве в течение 56 дней [2].

Таким образом, проведенный анализ литературы показывает, что использование дождевых червей *E. fetida* для биоремедиации нефтезагрязненных почв, при содержании углеводов в почве не более 4 г/кг, является эффективным приемом. Учитывая вышеизложенное, задачей настоящего исследования было изучение эффективности биоремедиации нефтезагрязненной почвы при использовании дождевых червей *E. fetida* в присутствии биопрепаратов «Байкал ЭМ 1» и «Тамир» в почве, загрязненной различными концентрациями масла (от 40 г/кг до 100 г/кг).

Материалы и методы исследования

Виды дождевых червей

Для проведения вермиремедиации загрязненной маслом почвы были выбраны дождевые (навозные) черви *Eisenia fetida* (Savigny, 1826). В эксперименте использовались только половозрелые особи. Взрослые особи были приобретены в ЛПХ Ермак (Россия, г. Саратов). Средняя масса червей составляла 0,41-0,92 г. Взрослые особи были приобретены в ЛПХ Ермак (Россия, г. Саратов).

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.

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 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 добавлено отработанное машинное масло, в количестве 40–100 г/кг черви *E. fetida* и микробиологический препарат «Байкал ЭМ 1».

В образцах серии 2, для получения образцов загрязненных почв, в почву было внесено отработанное машинное масло, в количестве 40–100 г/кг черви *E. fetida* и микробиологический препарат «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 подкармливали 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 углеводов, 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.

*Общая численность *E. fetida* и микробиологический препарат «Байкал ЭМ 1».*

В контрольном варианте общая численность *E. fetida* увеличилась в 2 раза, а при внесении биопрепарата «Байкал ЭМ 1» в 4,8 раза. В варианте с концентрацией масла 40 г/кг и биопрепаратом выживаемость червей была 80%, и общая численность составила 7,6 экз/сосуд. При внесении в почву 60 г/кг масла выживаемость червей на 8 неделе исследования составила 60%, и общая численность составила 6 экз/сосуд. При внесении в почву 80 г/кг масла выживаемость червей на 8 неделе исследования составила 50%, и общая численность составила 4,6 экз/сосуд. А при концентрации масла 100 г/кг выживаемость на 6 неделе составила 30%.

Изменение общей численности *E. fetida* 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	20,03
2	Байкал	100	48,93
3	Тамир	100	33,66
4	40 г/кг + Байкал	56	7,67
5	60 г/кг + Байкал	60	6
6	80 г/кг + Байкал	46	4,67
7	100 г/кг + Байкал	60	6
8	40 г/кг + Тамир	16	7
9	60 г/кг + Тамир	0	4
10	80 г/кг + Тамир	0	2,6
11	100 г/кг + Тамир	0	0

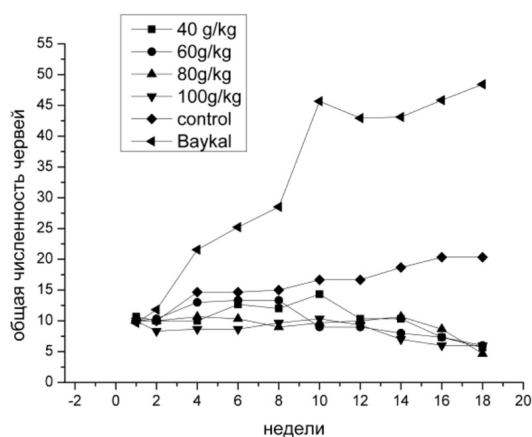


Рис. 1. Общая численность *Eisenia fetida* и микробиологический препарат «Байкал ЭМ 1»

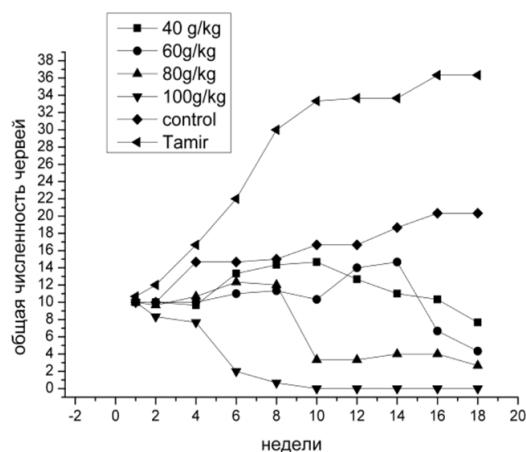


Рис. 2. Общая численность *Eisenia fetida* и микробиологический препарат «Тамир»

Общая численность *E. fetida* и микробиологический препарат «Тамир».

В контрольном варианте общая численность *E. fetida* увеличилась в 2 раза, а при внесении биопрепарата «Тамир» в 3,6 раз. В варианте с концентрацией масла 40 г/кг и биопрепаратом выживаемость червей составила 50 % на 16 неделе исследования, и общая численность составила 7,6 экз/сосуд. В варианте с концентрацией масла 60 г/кг и биопрепаратом выживаемость червей составила 30 % на 14 неделе исследования, и общая численность составила 4 экз/сосуд, а затем все черви погибли. В варианте с концентрацией масла 60 г/кг и биопрепаратом выживаемость червей составила 20 % на 16 неделе исследования и общая численность составила 2,6 экз/сосуд. А при концентрации масла 100 г/кг выживаемость на 6 неделе составила 20 %, но через 8 недель все черви погибли.

Разложение углеводов нефтепродуктов

Как видно из рис. 3, при внесении в почву масла в количестве 40 г/кг почвы процесс рекультивации почвы занимал 5 месяцев, в ходе которого концентрация углеводов снижалась на 10 %.

Внесение биопрепаратов «Байкал ЭМ 1», «Тамир», оказывало существенное влияние на процесс разрушения углеводов нефтепродуктов. Так, при добавлении биопрепарата «Байкал ЭМ 1» концентрация углеводов 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 углеводов в почве не наблюдалось. При введении в почву биопрепарата «Байкал ЭМ 1» и червей *E. fetida* концентрация масла в почве после

выдержки почвы в течение 4 месяцев снизилась в 6 раз до 0,79 г/кг (эффективность 98%). При введении в почву биопрепарата «Тамир» и червей *E. fetida* концентрация масла в почве после выдержки почвы в течение 6 месяцев снизилась в 6 раз до 1,74 г/кг (эффективность 96%).

При внесении в почву масла в количестве 60 г/кг процесс рекультивации почвы занимал 5 месяцев, в ходе которого концентрация углеводородов снижалась на 7%. Внесение биопрепаратов «Байкал ЭМ 1», «Тамир» оказывало существенное влияние на процесс разрушения углеводородов нефтепродуктов. Так, при добавлении биопрепарата «Байкал ЭМ 1» концентрация углеводородов в почве снижалась на 52%, а при добавлении биопрепарата «Тамир» – на 43%. 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 55 г/кг. При введении в почву биопрепарата «Байкал ЭМ 1» и червей *E. Fetida* концентрация масла в почве после выдержки в течение 4 месяцев снизилась в 4,9 раза до 14,31 г/кг (эффективность 78%). При введении в почву биопрепарата «Тамир» и червей

E. Fetida концентрация масла в почве после выдержки в течение 4 месяцев снизилась в 5,5 раз до 12,76 г/кг (эффективность 80%).

При внесении в почву масла в количестве 80 г/кг процесс рекультивации почвы занимал 4 месяца, в ходе которого концентрация углеводородов снижалась на 10%. Внесение биопрепаратов «Байкал ЭМ 1», «Тамир», оказывало существенное влияние на процесс разрушения углеводородов нефтепродуктов. Так, при добавлении биопрепарата «Байкал ЭМ 1» концентрация углеводородов в почве снижалась на 54%, а при добавлении биопрепарата «Тамир» – на 45%. 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 *E. fetida* концентрация масла в почве после выдержки в течение 6 месяцев снизилась в 3,8 раза до 33,5 г/кг (эффективность 71%). При введении в почву биопрепарата «Тамир» и червей *E. fetida* концентрация масла в почве после выдержки в течение 6 месяцев снизилась в 2,7 раза до 33,5 г/кг (эффективность 58%).

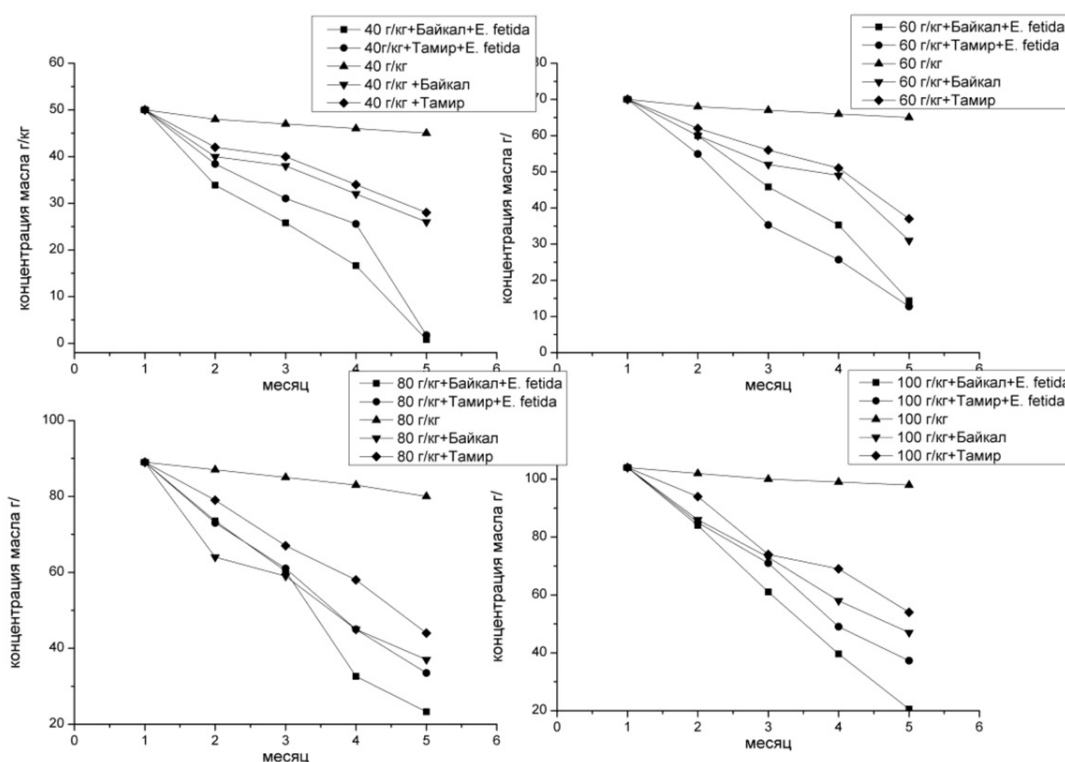


Рис. 3. Изменение концентрации масла в процессе вермикюльтивирования

При внесении в почву масла в количестве 100 г/кг процесс рекультивации занимал 5 месяцев, в ходе которого концентрация углеводов снижалась на 6%. Внесение биопрепаратов «Байкал ЭМ 1», «Тамир» оказывало существенное влияние на процесс разрушения углеводов нефтепродуктов. Так, при добавлении биопрепарата «Байкал ЭМ 1» концентрация углеводов в почве снижалась на 52%, а при добавлении биопрепарата «Тамир» – на 45%. В контрольном варианте, при внесении масла в почву в количестве 100 г/кг значительного снижения концентрации углеводов 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 *E. fetida* концентрация масла в почве после выдержки в течение 4 месяцев снизилась в 5,1 раз до 20,56 г/кг (эффективность 79%). При введении в почву биопрепарата «Тамир» и червей *E. fetida* концентрация масла в почве после выдержки почвы в течение 4 месяцев снизилась в 2,8 раза до 37,3 г/кг (эффективность 62%).

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 углеводов снижалась на 97-99%. Внесение микробиологического препарата оказывало существенное влияние на процесс деградации масла. В процессе вермикультивирования содержание масла снижалось на 60-90%. Наибольшая эффективность разложения отработанного автомобильного масла в почве отмечена при совместном использовании *E. fetida* и биопрепарата «Байкал-Эм-1» (эффективность 70-90%).

Список литературы

1. 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 [et al] // *Environmental Pollution*. – 2013. – Vol. 182. – P. 263–268.
2. Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil / I.C. Eom [et al] // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2007. – Vol. 67, № 2. – P. 190-205.
3. Potential of earthworms to accelerate removal of organic contaminants from soil / J. Rodriguez-Campos [et al] // *A review Applied Soil Ecology*. – 2014. – Vol. 79. – P. 10–25.
4. Safawat H.S.H. Earthworms survival in oil contaminated soil // H.S.H. Safawat, R.W. Weaver / *Plant Soil*. – 2002. – Vol. 240. – P. 127–132.
5. Schaefer M. Effects of *Lumbricus terrestris*, *Allolobophora chlorotica* and *Eisenia fetida* on microbial community dynamics in oil-contaminated soil / M. Schaefer, S.O. Petersen, F. Filser // *Soil Biol. Biochem.* – 2005. – Vol. 37. – P. 2065–2076.
6. Yeung A.T. A review on techniques to enhance electrochemical remediation of contaminated soils / A.T. Yeung, Y.Y. Gu // *Journal of Hazardous Materials*. – 2011. – Vol. 195. – P. 11–29.