

УДК 662.882.502.65

## ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ГРУНТОВ

© 2011 А.В. Курицын<sup>1</sup>, Т.В. Курицына<sup>2</sup>, И.В. Катаева<sup>3</sup>

<sup>1</sup> МУП по утилизации отходов Пермского района, г. Пермь

<sup>2</sup> ЗАО «Сибур-Химпром», г. Пермь

<sup>3</sup> Межотраслевой научно-исследовательский и проектно-технологический институт экологии топливно-энергетического комплекса, г. Пермь

Поступила в редакцию 11.10.2011

Указанная технология по биоремедиации нефтезагрязненных почв путем использования микроорганизмов-деструкторов нефти с высокой активностью на технологических площадках при правильном применении позволяет довести остаточное содержание нефти до санитарного уровня за вегетационный период.

Ключевые слова: *детоксикация, бактериальные препараты, микрофлора, биоремедиация, биотехнология*

Загрязнение почвы нефтепродуктами, особенно в регионах интенсивной разработки месторождений углеводородного сырья, к которым относится и Пермский край, является одной из серьезных экологических проблем современной России. Нефтезагрязнения оказывают отрицательное воздействие на химические, физические и биологические свойства почв. Под влиянием нефти и ее компонентов изменяется численность полезных почвенных микроорганизмов основных физиологических групп, уменьшается активность окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов, ухудшаются агрофизические, агрохимические свойства почвы, снижается обеспеченность почвы подвижными формами азота и фосфора. В современных условиях при данном уровне развития промышленности проблема восстановления природного потенциала нефтезагрязненных территорий весьма актуальна. Для снижения неблагоприятных воздействий нефтяного загрязнения на окружающую среду необходимо знание закономерностей биохимической трансформации загрязняющих веществ в различных природных условиях, прогноз их изменения во времени и в пространстве, научное обоснование мероприятий по обезвреживанию нефтезагрязнений.

Известно, что биодegradация нефти и нефтепродуктов в почве происходит при активном участии почвенных микроорганизмов,

способных использовать нефтесоединения в качестве источника энергии. Микроорганизмы способны разрушать практически любые соединения: органические или минеральные, но при условии применения смесей культур. Штаммы микроорганизмов, утилизирующие углеводороды, эффективно применяют для биоремедиации нефтезагрязненных экосистем. Биоремедиация основана на принципе *ex situ*, т.е. процесс очистки её от поллютантов за пределами места загрязнения, что делает этот подход более дорогостоящим, чем биоремедиация *in situ*. Тем не менее, у технологий данного типа есть ряд преимуществ: они требуют меньше времени и обеспечивают полный контроль процесса очистки.

Основную роль в разложении углеводородов в почве играет бактериальная микрофлора. В почве преобладающая часть углеводородокисляющих микроорганизмов принадлежит бактериям рода *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*, которые могут успешно развиваться в широком диапазоне природно-техногенных условий и являются одним из важнейших факторов в процессе деструкции нефтепродуктов [1]. Созданные отделом биотехнологии ОАО «МНИИЭКО ТЭК» бактериальный препарат БИОР-АВ содержит активные культуры микроорганизмов, разлагающих нефть, которые депонированы во ВНИИсельхозмикробиологии (г. Санкт-Петербург) и имеют санитарно-эпидемиологическое заключение, выданное Государственной санитарно-эпидемиологической службой РФ [2]. Препарат биорекультиват АВ (БИОР-АВ) – биодеструктор нефти – содержит следующий состав (%): гуминовые кислоты – 65,0; карбоновые

Курицын Андрей Валентинович, директор. E-mail: [esotir@mail.ru](mailto:esotir@mail.ru)

Курицына Татьяна Владимировна, химик. E-mail: [kav2008@mail.ru](mailto:kav2008@mail.ru)

Катаева Ирина Валерьяновна, кандидат биологических наук, заведующая отделом биотехнологии. E-mail: [kataeva@mniiekotek.ru](mailto:kataeva@mniiekotek.ru)

кислоты – 11,0; аминокислоты – 13,36; полисахариды – 0,6; витамины группы В – 0,04; активная микрофлора – 10,0. Активная микрофлора препарата содержит *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas fluorescens*.

Способ обезвреживания нефтезагрязненных грунтов предусматривает разложение нефти и нефтепродуктов с помощью микроорганизмов рода *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus* до уровня санитарных норм (не более 20 г/кг почвы) для последующего использования грунта в дорожном строительстве. Последовательность выполнения работ по восстановлению грунтов:

- техническая подготовка участка, включающая размещение нефтезагрязненных грунтов с помощью специальной техники и планировку поверхности;
- внесение минеральных удобрений (например, нитроаммофоска), содержащих азот, фосфор, калий, необходимых для развития микроорганизмов, разлагающих нефть в дозе 150 кг/га. Внесение минеральных удобрений производится 1 раз перед первым рыхлением (фрезерованием) на глубину ~ 20 см, рыхление используется для улучшения водно-физического режима и условий аэрации грунта;
- внесение бактериального препарата с последующим рыхлением (фрезерованием) на глубину ~ 20 см производится от 3 до 5 раз в сезон в зависимости от остаточного содержания нефти в грунтах с интервалом в 20 дней; максимальная доза бактериального препарата при первой обработке составляет 100 кг/га, при последующих обработках доза корректируется в зависимости от результатов химических и микробиологических анализов грунта.

Работы по биоремедиации нефтезагрязненных грунтов с использованием бактериального препарата БИОР-АВ проводятся в летнее время с мая по октябрь. До начала работ отбираются пробы грунта для выполнения химических анализов на содержание нефтепродуктов. Пробы отбираются по правилу «конверта» в 5 точках в каждом расчетном квадрате с глубины 15-20 см в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02-84 в полиэтиленовые пакеты. Параллельно с химическими анализами выполняются микробиологические анализы отделом биотехнологии на содержание родов бактерий, разлагающих нефть (*Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*). В процессе работ отбор проб грунта, выполнение химических и микробиологических анализов производится каждый раз перед очередным рыхлением (фрезерованием) грунта.

БИОР-АВ производится, хранится и перевозится в сухом виде в пакетах весом 5 кг и вносится в грунт в виде суспензии. Для получения суспензии сухой БИОР-АВ разводят в воде и выдерживают в течение двух часов при периодическом перемешивании. На 1 кг БИОР-АВ используется 100 л воды. Обработка рекультивируемого участка бактериальным препаратом обычно производится с помощью поливочной машины. БИОР-АВ содержит культуры микробов-деструкторов нефтепродуктов с титром  $10^{12}$  и применяется в дозе 100-150 кг/га в зависимости от содержания нефтепродуктов. Рыхление проводится 1-2 раза в неделю с помощью боронования на глубину 20 см для ускорения микробного окисления загрязняющих почву нефтепродуктов. Приблизительно через 20 дней проводится дополнительное внесение микробов рода *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*. Доза препарата определяется по количеству оставшихся нефтепродуктов в грунтах, т. е. при их уменьшении снижается количество вносимых микроорганизмов.

Опытно-промышленное применение способа биоремедиации нефтезагрязненных грунтов осуществлялось в течение летнего периода 2009 г. на технологических площадках (рабочих зонах) МУП по утилизации отходов Пермского района, расположенных на полигоне «Ольховка» Пермского района Пермского края: рабочая зона №1 V - 2400 м<sup>3</sup> и S - 0,8 га, рабочая зона № 2 V - 900 м<sup>3</sup> и S - 0,3 га. В процессе проведения опытно-промышленных работ на опытных участках после обработки их биопрепаратом определялись следующие химические, микробиологические и биологические показатели:

- нефтепродукты, содержащиеся в почвогрунтах, методом по РД 39-014 7098-015-90 п. 4.1;
- содержание микроорганизмов-деструкторов нефти количественным методом на селективных средах [3];
- токсичность почвогрунтов методом биотестирования с помощью дафний *Magna straus*[4].

Результаты анализов на содержание нефтепродуктов на участке рабочая зона № 1 (Полигон Ольховка) показали что количество нефти снизилось с 44760 до 20045 мг/кг, в рабочей зоне № 2 – с 27520 до 19325 мг/кг.

Из таблицы следует, что аборигенная углеводородокисляющая микрофлора, являющаяся постоянным компонентом почвенных биоценозов, заметно активизировалась после обработки микроорганизмами рода *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus* и возросло их количество, что подтверждает высокий потенциал очистки от нефти обработанных участков. Из

приведенных данных видно, что количество нефти на всех технологических площадках снизилось до санитарных норм, что обеспечило их использование в строительстве дорог и

обваловке нефтезагрязнённых участков. Биотестирование показало, что очищенные от нефти почвогрунты не оказывают токсического действия на тест-объекты.

**Таблица.** Результаты химических и микробиологических анализов нефтезагрязненных грунтов на полигоне Ольховка

Наименование пробы	Содержание нефтепродуктов, мг/кг почвы		Содержание микроорганизмов-деструкторов, тыс. клеток в 1 г грунта	
	начальное	конечное	начальное	конечное
рабочая зона 1	44760	20045	432	1220
рабочая зона 2	27520	19325	432	2348

Таким образом, проведенные опытно-промышленные испытания по обезвреживанию нефтезагрязненных грунтов с помощью активных штаммов микроорганизмов показали, что данный способ является перспективным и может быть использован на техногенных и деградированных территориях, загрязненных нефтепродуктами. Количество нефти после обработки препаратом БИОР-АВ снижается до санитарных норм, что обеспечивает их использование в строительстве дорог и обваловке нефтезагрязненных участков

**Выводы:** используемый метод при правильном применении позволяет обеспечить высокое качество детоксикации земель за вегетационный период. Применение комплексного биопрепарата БИОР-АВ, содержащего микроорганизмы рода *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*, активизированные к условиям детоксикации нефтезагрязненных земель, позволяет очищать почвогрунты от нефти до

санитарной нормы с содержанием остаточной нефти до 20 г/кг и использовать впоследствии почву в дорожном строительстве, отсыпке площадок, обустройства обваловок.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Красавин, А.П. Межотраслевая экологическая наука в условиях рыночной экономики. Сборник статей к 60-летию МНИИЭКОТЭК. – Пермь, 2008. С. 40-53.
2. Методические указания по практическому применению бактериального препарата-биодеструктора нефти «Биорекультиват АВ (БИОР-АВ) для рекультивации нарушенных земель и биоремедиации нефтезагрязненных грунтов. ОАО «МНИИЭКО ТЭК», г. Пермь, 12.01.2010 г. С. 1-5.
3. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и плодовитости дафний. ФР.1.39.2001.00283. – М., 2001. С. 1-35.
4. Практикум по микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова. – М., 1976. 307 с.

## TECHNOLOGICAL AND BIOLOGICAL ASPECTS OF BIOREMEDIATION THE PETROPOLLUTED SOILS

© 2011 A.V. Kuritsyn<sup>1</sup>, T.V. Kuritsyna<sup>2</sup>, I.V. Kataeva<sup>3</sup>

<sup>1</sup> MUE of Waste Utilization in Perm district, Perm

<sup>2</sup> JSC "Sibur-Himprom", Perm

<sup>3</sup> Interbranch Scientific Research and Design-technological Institute of Fuel and Energy Complex Ecology, Perm

The specified technology of bioremediation the petropolluted soils by use the microorganisms-destructors of oil with high activity on technological platforms at the correct application allows to finish residual maintenance of oil to sanitary level for the vegetative period.

Key words: *detoxication, bacterial preparations, microflora, bioremediation, biotechnology*

Andrey Kuritsyn, Director. E-mail: [ecomup@mail.ru](mailto:ecomup@mail.ru)

Tatiana Kuritsyna, Chemist. E-mail: [kav2008@mail.ru](mailto:kav2008@mail.ru)

Irina Kataeva, Candidate of Biology, Chief of the

Biotechnology Department. E-mail: [kataeva@mniiekotek.ru](mailto:kataeva@mniiekotek.ru)