

---

---

## ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ

---

УДК 504.06

### РАЗРАБОТКА СОРБЦИОННОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ ОЧИСТКИ ПОЧВ ОТ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ

© 2017 В.В. Заболотских, А.В. Васильев, К.В. Тутукова

Самарский научный центр РАН

Статья поступила в редакцию 02.12.2017

Статья посвящена проблеме нефтяных загрязнений почв и разработке способов их очистки и восстановления на основе разработки и применения сорбционных комплексов. Сорбционные комплексы вносятся в место загрязнения почвы и способствует стимуляции процесса биодеструкции загрязняющих веществ почвенными микроорганизмами и эффективному очищению и самовосстановлению почв.

**Ключевые слова:** нефтяные загрязнения почв, сорбционные комплексы, биодеструкция углеводородов, очистка и восстановление почв, биотестирование.

*Работа выполнена в рамках государственного задания, тема НИР  
“Разработка и апробация теоретических основ мониторинга  
токсикологических загрязнений окружающей среды”*

#### 1. ВВЕДЕНИЕ

Самарская область является техногенно наруженным регионом, который перерабатывает более 25 % всей российской нефти и еще больше транспортирует [2-9, 11-13]. Многочисленные нефтегазодобывающие, газо- и нефтеперерабатывающие предприятия, магистральные и локальные трубопроводы являются крупными источниками нефтяного загрязнения окружающей природной среды. Вследствие этого в Самарской области, по ориентировочным подсчетам, расположено около 450 га территорий замазученных грунтов на пахотных землях, образовавшихся при аварийных разливах нефтепродуктов и сырой нефти и нуждающихся в рекультивации.

Наиболее перспективным способом рекультивации больших площадей загрязненных земель или значительных объемов замазученных грунтов, является биообработка почв непосредственно на месте аварии или на специализированном полигоне с помощью технологии почвенной биодеструкции углеводородов [1, 10].

Заболотских Влада Валентиновна, кандидат биологических наук, доцент, научный сотрудник отдела инженерной экологии экологического мониторинга.

E-mail: Vlada310308@mail.ru

Васильев Андрей Витальевич, доктор технических наук, профессор, начальник отдела инженерной экологии и экологического мониторинга. E-mail: avassil62@mail.ru

Тутукова Ксения Викторовна, инженер отдела инженерной экологии экологического мониторинга.

E-mail: tutukova94@mail.ru

Для восстановления почв авторами разрабатываются сорбционные комплексные смеси биодобавок разного назначения, которые предлагаются вносить в почву, загрязненную нефтью и нефтепродуктами. Локальное внесение такого комплекса приводит к активизации процесса биодеградации токсикантов аборигенными микроорганизмами почвы и стимулирует способность почвы к самоочищению и самовосстановлению. Достоинством новых сорбционных комплексов является их эффективность, экологичность, доступность материалов, комплексность использования и экономичность. Смеси в удобной упаковке можно успешно применять для решения проблем локального загрязнения почв.

Главная идея применения комплексных смесей – создать почвенному микросообществу необходимые условия для восстановления и активного самоочищения почвы. Многокомпонентная смесь вносится в место загрязнения почвы и способствует стимуляции процесса биодеструкции загрязняющих веществ почвенными микроорганизмами и эффективному очищению и самовосстановлению почв.

Окисление нефти начинается сразу после ее попадания в почву. Общими чертами этого процесса является быстрое разрушение метанованафтеновых фракций, снижение содержания полициклических углеводородов, относительное увеличение доли смолистых веществ в нефти, переход части нефтяных компонентов в нерастворимые в органических растворителях формы. Скорость изменения отдельных углеводородов и групповых фракций зависит от при-

родно-климатических зон и состава исходной нефти. Важно проводить аэрирование почв, в частности, путем внесения рыхлых материалов, например, туффита, торфа, соломы, а также искусственных структурообразователей.

В поиске путей интенсификации процесса биодеструкции нефти на месте аварийных разливов были экспериментально апробированы три вида смеси различных сорбентов вместе с нефтедеструкторами и активирующими добавками. При разработке смесей особое внимание было обращено на улучшение сорбционных свойств сорбентов и их комплексное использование с биодеструкторами.

Сорбционные комплексы вносятся в место загрязнения почвы и способствует стимуляции процесса биодеструкции загрязняющих веществ почвенными микроорганизмами и эффективному очищению и самовосстановлению почв.

Проводимый нами анализ возможных путей повышения эффективности биодеструкции позволил нам выявить основные факторы интенсификации этого процесса в зависимости от задач и места их применения. Например, большое значение для интенсификации процесса биологической очистки имеет введение минеральных добавок и различных биодеструкторов на сорбционных носителях.

Анализ методов ликвидации разлива нефтепродуктов показал, что биосорбционный метод является наиболее эффективным и доступным способом. Структурный анализ растительных сорбентов и экспериментальное изучение их сорбционной ёмкости показали, что растительные сорбенты являются перспективными для получения новых материалов, обладающих высокой развитой сорбционной поверхностью.

Кроме того, такие сорбенты отличаются не только экономичностью и эффективностью, но и экологичностью и могут применяться в качестве биосорбентов при иммобилизации на них микроорганизмов – нефтедеструкторов.

Для изучения эффективности очистки почвы от нефтепродуктов на основе применения разработанных сорбционных комплексов были проведены экспериментальные исследования. В качестве сравнительных опытных моделей были исследованы различные компоненты и составы сорбционных комплексов (смесей) для очистки почв от нефти и нефтепродуктов.

## 2. ПРОВЕДЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПО ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ СОРБЦИОННЫХ КОМПЛЕКСОВ В ОЧИСТКЕ ПОЧВ ОТ НЕФТИНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ

Для опытов были взяты 10 образцов почвы (по 370 г), 4 образца из которых были загрязнены по 10 мл нефтью, 4 других загрязняли нефтью по 20 мл и два образца оставались без загрязнения - контрольные. Далее в каждую пробу добавляли сорбционные комплексы. Исследовалась сравнительная эффективность очистки почвы при внесении в почвенные пробы различных комплексов.

Было смоделировано 4 сорбционных комплекса (смеси):

- 1) Опилки, вермикулит;
- 2) Опилки, вермикулит + раствор препарата ЭМ;
- 3) Опилки, вермикулит + раствор препарата ЭМ;
- 4) Опилки, вермикулит + раствор биопрепарата + ускоритель компоста;
- 5) Контрольная проба.



Рис. 1. Определение количества нефтепродуктов в почве гравиметрическим методом

Количество нефти в почвенных образцах через две недели после закладки опытов и моделирования загрязнения почв нефтью проводили гравиметрическим методом. Этот метод основан на определении нефти и нефтепродуктов в почве в результате их экстракции из почвы экстрагентом с последующей очисткой элюата на окиси алюминия в колонке от полярных соединений и последующем взвешивании выделяемых нефтепродуктов.

В ходе эксперимента было выявлено, что через семь суток после моделирования загрязнения почвы нефтью в почве контрольной пробы содержалось 0,1 мг нефтепродуктов, в почве загрязненной 10 мл нефти 0,3 мг, в пробе с загрязнением 20 мл нефти 0,5 мг.

Далее определяли каталазную активность исследуемых образцов почвы как показатель активности микробных ферментов каталазы, а следовательно и процессов биодеструкции нефти почвенными микроорганизмами.

Методы определения каталазой активности почвы основаны на измерении скорости распада перекиси водорода при взаимодействии ее с почвой (ферментом каталазой) по объему выделяющегося кислорода или по количеству не разложенной перекиси, которое определяют титрованием или колориметрическим способом с образованием окрашенных комплексов.

*При определении каталазной активности почвенных ферментов в коническую колбу емкостью 125 мл помещали 2 гр почвы, затем приливали 40 мл дистиллированной воды и 5 мл 0,3%-ной перекиси водорода. Колбу устанавливали на ротатор и взбалтывали суспензию в течение 20 мин. Нерасщепленную часть перекиси стабилизировали добавлением 5 мл 3н. серной кислоты, и содержимое колб фильтровали через плотный фильтр. Затем 25 мл фильтрата титровали 0,1н. марганцевокислым калием до слабо-розовой окраски. Начальную концентрацию*

использованной перекиси корректировали титрованием перманганатом в кислой среде. Для этого 5 мл 0,3%-ной перекиси смешивали с 40 мл воды и 5 мл 3н. серной кислоты, 25 мл этой смеси титровали 0,1 н. марганцевокислым калием. Из количества перманганата, израсходованного на титрование исходной перекиси (A), вычитали количество перманганата, израсходованного на титрование (B). Эта разница с учётом поправки к титру перманганата (T) отражает каталазную активность почвы, определяемую по формуле:  $(A - B) / T$ . Каталазную активность выражали в миллилитрах 0,1 н. KMNO<sub>4</sub> на 1 г сухой почвы за 20 мин.

1-ый образец почв: почва, загрязненная 10 мл нефти. На титрование 1-огообразца почвы израсходовано - 1,7 мл.

2-ой образец почв: почва, загрязненная 20 мл нефти. На титрование 2-ого образца почвы израсходовано - 1,3 мл.

3-ий образец почв: не загрязнённая (контроль). На титрование 3-огообразца почвы израсходовано - 1 мл.

В результате получили следующие значения каталазной активности:

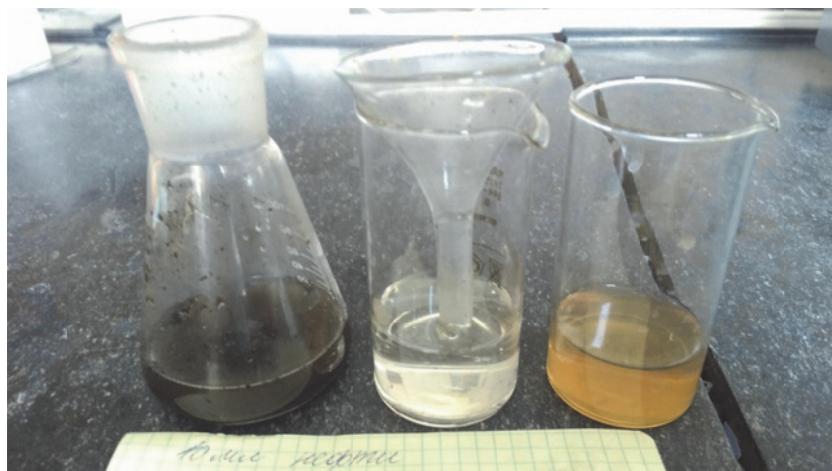
$$T_1 = (21 - 1,7) = 19,3; \quad T_2 = (21 - 1,3) = 19,7;$$

$$T_3 = (21 - 1) = 20$$

Наиболее высокие значения каталазной активности наблюдались в почвенных образцах без загрязнения и с наибольшей степенью загрязнения нефтью – 20 мл., что связано вероятно с интенсивными процессами биотрансформации загрязнений биосорбционным и микробным комплексами загрязненных почв.

### 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПОЧВЫ С ПОМОЩЬЮ ТЕСТ-ОБЪЕКТА

Для определения токсичности почвы в качестве тест-объекта использовали кress-салат. В каждый контейнер мы посадили по 10 семян



**Рис. 2.** Определение каталазной активности: вытяжка почвы, загрязнённой 10 мл нефти; раствор фильтрованной почвы с серной кислотой и перекисью водорода: раствор титрованный перманганатом

кress-салата. Периодически производился полив равными количествами отстоянной водопроводной воды (рис. 3).

В течение опыта велись наблюдения за изменением фитотоксичности почвы по следующим показателям тест – объекта кress-салата:

- время появления всходов и их число на каждые сутки;
- общая всхожесть (к концу опыта);
- измерение длины надземной части (высота растений);
- измерение длины корневой части проростков тест-объекта кress-салата.

Через десять суток растения были извлечены из почвы и проведены измерения надземной и подземной частей. В конце опыта были произведены измерения длины надземной части (высота растений), длины корней, общей длины (таблица 1).

#### 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОМЧ (ОБЩЕГО МИКРОБНОГО ЧИСЛА) ПОЧВЕННЫХ ОБРАЗЦОВ ПОСЛЕ ВНЕСЕНИЯ КОМПЛЕКСОВ В ПОЧВЕННЫЕ ОБРАЗЦЫ

1. Брали 9 проб почвы по 50 грамм из каждого тестируемого образца.

2. Каждую пробу почвы перемешивали, перемалывали, просевали и брали по 30 грамм.

3. 30 грамм почвы разбавляли 270 мл дистиллированной воды.

4. Из полученного раствора взяли 30 мл, и добавили к 270 мл дистиллированной воды.

5. Из полученного раствора взяли 30 мл, и добавили к 270 мл дистиллированной воды.

6. Подготовили горелку, пипетки, грушу, чашки Петри и раствор.

7. Набрали 1 мл раствора и добавили в чашку



Рис. 3. Проростки кress - салата через 10 дней после посева

Таблица 1. Результаты наблюдений всхожести семян кress – салата в различных пробах

Образец №	Время			Процент всхожести %
	13.04.17	17.04.13	23.04.13	
Контрольная проба	0	10	10	100
Загрязнение 10мл нефти	0	1	4	40
Загрязнение 20 мл нефти	0	0	3	30

Петри и залили агаром растворенным и остуженным до 45-49 °С.

8. В течение 15-20 минут остужаем чашки, переворачиваем вверх дном и убираем в термостат на 24 часа при  $t = 37$  °С.

9. Разведение 1:1000

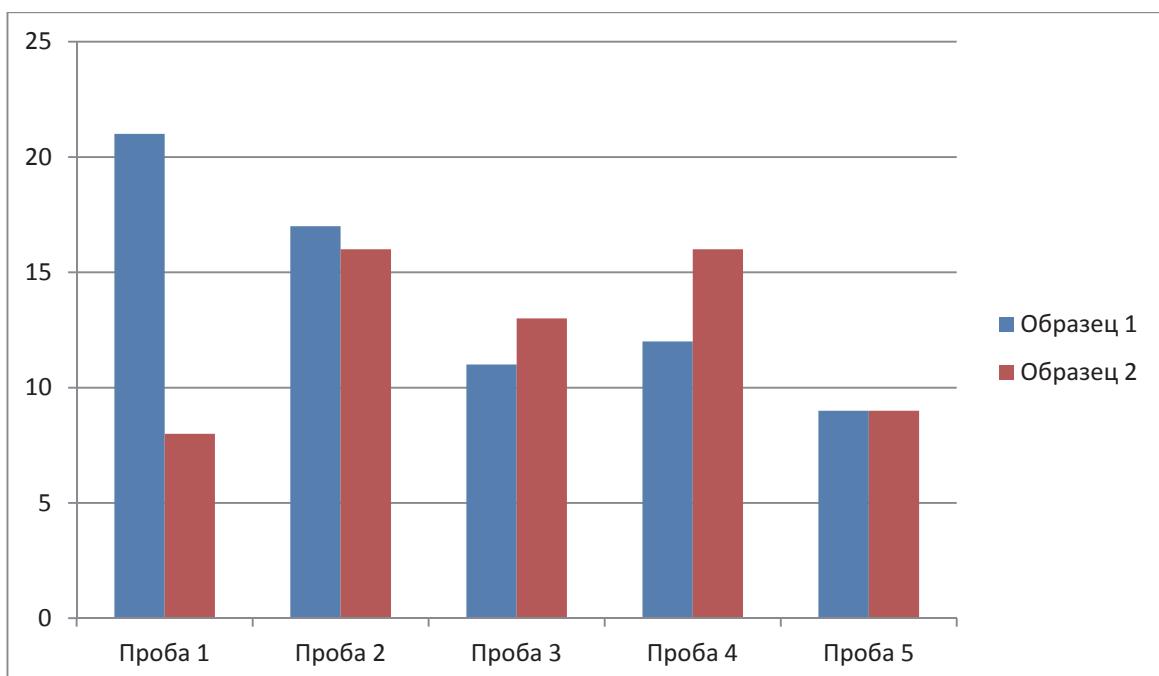
Получены следующие результаты общего микробного числа (рисунок 4):

### 5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПОЧВЕННЫХ ОБРАЗЦОВ ПОСЛЕ ОЧИСТКИ СОРБЦИОННЫМИ КОМПЛЕКСАМИ

Через четырнадцать суток растения были извлечены из почвы и проведены измерения надземной и подземной частей. В конце опыта были произведены измерения длины надзем-

ной части (высота растений), длины корней, общей длины. Было показано, что в пробе с применением сорбционных комплексов деструкция нефтепродуктов прошла наиболее эффективно. В данной пробе отмечалась наименьшая токсичность почвы. Длина проростков кресс-салата и всхожесть семян были самые высокие и практически приближались по значениям к показателям длины проростков и их всхожести в фоновой пробе, не загрязненной нефтепродуктами (таблица 2).

Экспериментальные исследования с использованием тест-объекта кресс-салата позволили выявить изменения токсичности почвы в пробе с внесением сорбционного комплекса (образец 2.1.). Сравнительные исследования показали, что в результате применения разработанного



**Рис. 4.** Определение ОМЧ (общего микробного числа) в почвенных образцах после очистки загрязнённых нефтью почвенных образцов

**Таблица 2.** Результаты тестирования почвенных образцов после очистки сорбционными комплексами

Номер образца	Средняя длина надземной части, мм	Средняя длина подземной части, мм	Всхожесть, %
1.1	40	45	100
1.2	26	33	80
2.1	55	55	100
2.2	24	31	88
3.1	37	25	70
3.2	44	53	70
4.1	49	31	70
4.2	53	34	80
5	41	22	90

сорбционного комплекса деструкция нефтепродуктов проходила более эффективно. Исследуемый сорбционный комплекс «2.1» оказался наиболее эффективным в уменьшении токсичности почвы и очистки её от нефтепродуктов. В пробах с внесённым комплексом «2.1.» отмечалась наименьшая токсичность почвы по сравнению с другими пробами. В этих пробах с внесением комплекса отмечались также самые высокие показатели длины проростков кress-салата и всхожести семян.

По результатам измерений установлено, что лучший результат наблюдался в пробе с комплексом «2.1.», а также в пробах с добавлением опилок и биопрепарата и с биокомплексом. Всхожесть семян тест-растения в них составила соответственно 100%, 100%, 100%. В пробе № 2.2 без применения комплекса всхожесть семян составила 88 %, ростки угнетенные и их длина самая наименьшая.

Таким образом, комплексная сорбционная смесь «2.1.» оказалась самой эффективной из применяемых компонентов для очистки почвы в других пробах. Это позволяет рекомендовать её внесение на стадии биологической рекультивации почвы при ликвидации аварийных разливов нефти.

Однако стоит учитывать особенности загрязненного участка земли. Почвы различных климатических зон неоднозначно загрязняются и, соответственно, очищаются от нефтяных загрязнений. Это необходимо учитывать при рекультивации почв и по разному оценивать процессы самоочищения. В почвенно-климатических зонах и провинциях усиление накопления нефтепродуктов при их попадании в почву возрастает с юга на север, от песчаных почв к глинистым, от среднеувлажненных к переувлажненным, от обрабатываемых к целинным.

## 6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при создании эффективных методов и технологий для восстановления почв, загрязнённых нефтепродуктами необходимо учитывать их физико-химические свойства, что является особенностью разработки новых разновидностей комплекса «2.1.» и новых технологических подходов к эффективному и экологичному восстановлению нефтезагрязнённых почв.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андерсон Р. К. Биотехнологические методы ликвидации загрязнений почв нефтью и нефтепродуктами / Р. К. Андерсон. М. : ВНИИОЭНГ, 1994. 24 с.
2. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / О.П. Мелехова, Е.И.Егорова, Т.И. Евсеева и др. [под ред. О.П. Мелеховой и Е.И. Егоровой]. М.: Издательский центр «Академия», 2007. 288 с.
3. Васильев А.В. Обеспечение экологической безопасности в условиях городского округа Тольятти: учебное пособие. Самара: Изд-во Самарского научного центра РАН, 2012. 201 с.
4. Васильев А.В. Комплексный экологический мониторинг как фактор обеспечения экологической безопасности // Академический журнал Западной Сибири. 2014. Т. 10. № 2. С. 23.
5. Общие подходы к биоиндикационной оценке водных экосистем по степени токсичности / А.В. Васильев, В.В. Заболотских, Ю.П. Терещенко, В.А. Васильев// В сборнике: ELPIT-2013. Экология и безопасность жизнедеятельности промышленно-транспортных комплексов: сборник трудов IV Международного экологического конгресса (VI Международной научно-технической конференции). Научный редактор: А.В. Васильев. 2013. Т. 4. С. 55-61.
6. Негативное влияние выбросов автотранспорта на человека в условиях городской среды / А.В. Васильев, В.В. Заболотских, И.О. Терещенко, Д.С. Шпрингер // В сборнике: XV Всероссийская конференция «Химия и инженерная экология» с международным участием. Сборник докладов. Казань, 2015. С. 155-157.
7. Восстановление нефтезагрязнённых почвенных систем / под ред. М. И. Глазовской. – М.: Наука, 1988. - 254 с.
8. Заболотских В.В., Васильев А.В. Мониторинг токсического воздействия на окружающую среду с использованием методов биоиндикации и биотестирования: Монография. Самара: Издательство Самарского научного центра РАН, 2012. 333 с.
9. Заболотских В.В., Васильев А.В. Комплексный мониторинг антропогенного загрязнения в системе обеспечения экологической безопасности города // Вектор науки ТГУ. 2012. № 2 (20). С.58 – 62.
10. Мурзаков Б. Г. Экологическая биотехнология для нефтегазового комплекса / Б. Г. Мурзаков. – М.: 2005. – 200 с.
11. Перегудов Д.Н., Васильев А.В. Биодиагностика воздействия отходов аэрокосмической отрасли на окружающую среду. Туполевские чтения» (школа молодых учёных) // В сборнике: Международная молодежная научная конференция «XXII Туполевские чтения». Материалы конференции. Министерство образования и науки Российской Федерации, Российский фонд фундаментальных исследований, Казанский национальный исследовательский технический университет им. АН. Туполева-КАИ (КНИТУ-КАИ). 2015. С. 57-61.
12. Vasilyev A.V., Zabolotskikh V.V., Vasilyev V.A. Development of methods for the estimation of impact of physical factors on the health of population // Safety of Technogenic Environment. 2013. № 4. Pp. 42-45.

13. Vasilyev A.V. Method and approaches to the estimation of ecological risks of urban territories // Safety of Technogenic Environment. 2014. № 6. Pp. 43-46.

**DEVELOPMENT OF SORPTION COMPLEX  
FOR CLEANING OF SOIL FROM OIL POLLUTIONS**

© 2017 V.V. Zabolotskikh, A.V. Vasilyev, K.V. Tutukova

Samara Scientific Center of Russian Academy of Science

The article is devoted to the problem of oil contamination of soils and the development of methods for their purification and recovery based on the development and application of sorption complexes. Sorption complexes are introduced into the soil contamination site and promotes stimulation of the process of biodegradation of pollutants by soil microorganisms and effective purification and self-repair of soils.

*Keywords:* oil pollution of soils, sorption complexes, biodegradation of hydrocarbons, cleaning and soil restoration, biological testing.

---

Vlada Zabolotskikh, Candidate of Biology, Associate Professor, Research Fellow at the Engineering Ecology and of Ecological Monitoring Department.

E-mail: [Vlada310308@mail.ru](mailto:Vlada310308@mail.ru)

Andrey Vasilyev, Doctor of Technical Science, Professor, Head at the Engineering Ecology and of Ecological Monitoring Department. E-mail: [avassil62@mail.ru](mailto:avassil62@mail.ru)

Kseniya Tutukova, Engineer of Engineering Ecology and of Ecological Monitoring Department.  
E-mail: [tutukova94@mail.ru](mailto:tutukova94@mail.ru)