

# ГРАДОСТРОИТЕЛЬНАЯ ЭКОЛОГИЯ. РЕКУЛЬТИВАЦИЯ НАРУШЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ

---

---

УДК 504.05:622.323+504.064.4:606

**Е.С. Белик**

Пермский национальный исследовательский  
политехнический университет

## **ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ С ПОМОЩЬЮ БИОСОРБЕНТА НА ОСНОВЕ КАРБОНИЗАТА**

Предложен способ интенсификации технологии биоремедиации нефтезагрязненных почв с помощью биосорбента на основе карбонизата. Представлены результаты лабораторных исследований по очистке нефтезагрязненных почв с помощью биосорбента. Разработаны рекомендации по применению биосорбента в технологии биоремедиации НЗП.

**Ключевые слова:** нефтезагрязненные почвы, биоремедиация, биосорбент, углеводородоокисляющие микроорганизмы.

Нефть является одним из важнейших природных ископаемых и незаменимым энергоресурсом, объемы добычи и переработки которой постоянно увеличиваются. Проблема загрязнения нефтью и нефтепродуктами урбанизированных территорий является актуальной экологической проблемой, особенно для нефтеперерабатывающих предприятий, которые располагаются на территории городских агломераций. Нефть и нефтепродукты влияют на морфологические, физические, химические, биологические свойства почвы, которые определяют ее плодородие и экологические функции [1].

При хранении и переработке нефти и нефтепродуктов могут быть технологические потери и аварийные ситуации, которые приводят к загрязнению окружающей среды, прежде всего поч-

вы. Для восстановления техногенно нарушенных территорий применяются различные технологии, отличающиеся по способам деструкции нефтепродуктов (физико-химические, биологические), аппаратурному оформлению, длительности процесса, достигаемой эффективности, экономическим затратам.

Одним из главных и приоритетных направлений в области охраны окружающей среды и рационального природопользования является разработка и внедрение усовершенствованных технологий восстановления почв методом биоремедиации (*bio* – жизнь, *remedio* – лечение), в основе которого заложен принцип самоочищения нефтезагрязненных территорий с участием углеродородокисляющих микроорганизмов (бактерии, актиномицеты, микроскопические грибы). В основе технологии биоремедиации заложен принцип самоочищения нефтезагрязненных территорий с участием аборигенной или привнесенной микрофлоры [2].

Активизация аборигенной микрофлоры направлена на создание оптимальной среды для развития определенных групп микроорганизмов, использующих нефть в качестве источника питания, что достигается за счет внесения в почву минеральных удобрений, поддержания оптимальной температуры, влажности и кислотности среды с помощью агротехнических приемов [2].

Внесение в почву различных биопрепаратов (водной суспензии микроорганизмов, обезвоженной микробной биомассы, биосорбентов), в основе которых заложены определенные культуры микроорганизмов, позволяющие повысить эффективность процесса очистки почвы от нефти и нефтепродуктов за счет увеличения численности нефтеокисляющих микроорганизмов. Перспективным направлением по очистке объектов окружающей среды от нефти с помощью микроорганизмов является использование биосорбентов.

Нефтяные биосорбенты – это сорбенты с иммобилизованными культурами микроорганизмов, обеспечивающих биологическое разложение нефти и нефтепродуктов [3]. Как и любой технологический процесс, применение биосорбентов в технологии биоремедиации нефтезагрязненной почвы (НЗП) имеет свои преимущества и недостатки.

К основным преимуществам использования иммобилизованных клеток на поверхности носителя можно отнести [2–4]:

1. Возможность более длительной эксплуатации свойств клеток в иммобилизованном состоянии по сравнению с однократным использованием свободных культур.

2. Увеличение продуктивности в результате увеличения концентрации биомассы микроорганизмов в единице рабочего объема носителя.

3. Снижение энергозатрат на процесс в целом; так как рабочие среды нередко содержат меньшее количество растворимых примесей, происходит упрощение процедуры выделения и очистки конечных продуктов.

4. Сохранение клеток благодаря адсорбции и частичной дезактивации микроорганизмов.

5. Устойчивость клеток к действию различных неблагоприятных инактивирующих внешних факторов (температура, кислотность, концентрация электролитов или токсических веществ и др.), в результате иммобилизации иногда становится возможной еще дополнительная защита культуры от воздействия патогенной для нее микрофлоры при случайных нарушениях стерильности биотехнологической системы.

6. Активизация природного самоочищения за счет природных механизмов, которые без препарата ингибируются под действием разлитых нефтепродуктов.

7. Способность биопрепарата при внесении в загрязненную нефтепродуктами почву увеличивать численность микроорганизмов, так как они используют в качестве питания углеводороды нефти. В природных условиях штаммы данных микроорганизмов сохраняют свою активность и численность популяции на время биодеструкции (ликвидации) углеводородов и при уменьшении его количества уменьшается и их численность. Поэтому, в результате полного поглощения нефтепродуктов, бактерии теряют питательную среду и отмирают, создавая на грунте гумус, в воде ил. Микроорганизмы также гибнут, если находятся отдельно от носителя. Таким образом, исключается возможность такого явления, как интродукция – микробное загрязнение природной среды, и хранение, применение биосорбента становится безопасным.

Несмотря на огромное количество преимуществ использования биосорбентов в технологиях очистки биоремедиации почв, их применение в настоящее время ограничено в силу недостаточной селективности, малой механической прочности; сложной и дорогостоящей регенерации, часто сопоставимой по затратам с производством сорбента.

Недостаточно исследованы механизмы поглощения и утилизации токсичных веществ в структуре биосорбента, отсутствуют данные о динамике окисления нефтепродуктов, нет данных об активации биосорбентов перед их использованием и снижении активности биосорбентов в процессе хранения, отсутствуют данные о последствиях влияния биосорбентов на почву и на генетику растений.

К недостаткам применения биосорбентов, как и к применению биопрепаратов на основе микроорганизмов в целом (обезвоженная микробная масса, водная суспензия микроорганизмов), можно отнести температурные условия проведения процесса очистки, так как при температуре ниже 5 °С размножение микроорганизмов практически останавливается.

Кроме того, существует проблема по формированию универсального штамма деструктора, который эффективен в каждом отдельном случае с учетом температуры окружающей среды, биосостава почвы, географии проведения работ, нефтепродукта [3].

В связи с этим исследования, направленные на получение новых видов биосорбентов и обоснование их использования в качестве альтернативы традиционным технологиям, представляют собой актуальную экологическую задачу.

Полученный на кафедре ООС ПНИПУ биосорбент был применен в технологии биоремедиации НЗП. Биосорбент – это носитель, на поверхности которого иммобилизованы углеводородокисляющие микроорганизмы (УВОМ). В качестве носителя использовали отход нефтехимического производства – карбонизат – термически обезвреженный избыточный активный ил [5].

Карбонизат представляет собой пористые гранулы размером 5–10 мм (рис. 1) и имеет, по данным М.С. Дьякова и др., следующие технические характеристики: насыпная плотность – 385 г/дм<sup>3</sup>, водопоглощение – 61,5 %, продуктопоглощение (нефте- и масло-

емкость) – 0,35–0,55 г/г, механическая прочность на истирание – 50 % [6].

Объектом исследования служила загрязненная нефтью Бугурусланского месторождения почва с содержанием нефтепродуктов  $40 \pm 5$  г/кг, в почве присутствуют бактерии и актиномицеты, отсутствуют микроскопические грибы. Характеристика исходной нефтезагрязненной почвы по физико-химическим и микробиологическим показателям представлена в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика исходной нефтезагрязненной почвы, используемой для эксперимента

Показатель	Единица измерения	Значение показателя
<i>Физико-химические показатели</i>		
Влажность	%	18–20
Реакция среды	pH	5,8–6
Содержание НП	г/кг	$40 \pm 5$
<i>Микробиологические показатели</i>		
Общее количество микроорганизмов	кл/г	$6,4 \cdot 10^5$
Сапрофитные бактерии	КОЕ/г	$(5,4 \pm 0,7) 10^7$
УВОМ, выросшие на среде К	КОЕ/г	$(4,5 \pm 2) 10^6$
УВОМ, выросшие на среде Таусона	КОЕ/г	$(1,65 \pm 0,4) 10^7$
Бактерии р. <i>Azotobacter</i>	% обрастания комочков	85
Олигонитрофилы	КОЕ/г	$(1,3 \pm 0,11) 10^9$
Актиномицеты	КОЕ/г	$(1,1 \pm 0,3) 10^9$
Микроскопические грибы	КОЕ/г	Не выросло

Микроорганизмы, выделенные на МПА, из нефтезагрязненной почвы представлены на рис. 1.

Экспериментальные исследования по биоремедиации НЗП проводили в лабораторных условиях в контейнерах емкостью 5,0 дм<sup>3</sup>. В ходе экспериментальных исследований на протяжении 90 суток поддерживали постоянные условия: температура воздуха  $20 \pm 2$  °С; pH среды 6,0–7,0; освещение – естественное; влажность субстрата – 65–70 %.

В качестве контрольных образцов использовали субстрат на основе НЗП и опила в соотношении 7:3 (вариант № 2), субстрат на основе НЗП, опила и суспензии УВОМ в соотношении 7:3:1 (вари-

ант № 3) и субстрат из НЗП с добавлением карбонизата из расчета 10 г на 1 кг НЗП (вариант № 4).

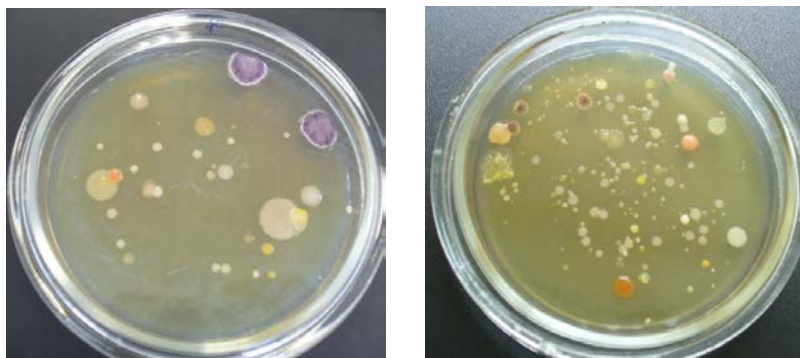


Рис. 1. Микроорганизмы, выделенные из нефтезагрязненной почвы

Контроль процесса очистки НЗП в ходе эксперимента проводили по физико-химическим (содержание нефтепродуктов, влажность) и микробиологическим показателям.

Определение содержания нефтепродуктов осуществляли гравиметрическим способом. Влажность почвы устанавливали при высушивании пробы почвы до постоянной массы при температуре  $105 \pm 5$  °С и определении разницы в массе почвы до и после высушивания.

Микробиологический контроль осуществляли по следующим показателям: общее содержание микроорганизмов, численность сапрофитных бактерий, УВОМ, бактерий рода *Azotobacter*, олигонитрофилов, актиномицетов и микроскопических грибов. Применяли широко используемый в микробиологической практике метод посева на различные селективные питательные среды. Представленные группы микроорганизмов играют основную роль в деструкции углеводородов нефти [7].

Эффективность очистки почвы от нефтепродуктов через 3 мес. в исследуемых вариантах представлена в табл. 2.

Обоснованием выбора соотношений компонентов исследуемых субстратов служили существующие технологические параметры процесса биоремедиации в климатических условиях Западного Урала (вариант № 2), литературные данные по применению биосорбентов, а также экспериментальные данные (варианты № 3, 4, 5).

Таблица 2

**Эффективность очистки почвы от нефтепродуктов  
через 3 мес. эксперимента**

Показатель	Варианты способа очистки НЗП				
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
Рецептура	Исходная почва	НЗП : опил	НЗП: опил: суспензия УВОМ	НЗП: кар- бонизат	НЗП: био- сорбент
Массовые соотношения, доля	–	7:3	7:3:1	100:1	100 : 1
Остаточное содержание НП через 1,5 мес., г/кг	39,8–38,5	33,9–34,2	32,8–33,2	34,2–34,8	28,4–28,8
Остаточное содержание НП через 3 мес., г/кг	37,0–37,8	25,7–25,9	22,5–24,0	24,9–25,3	16,2–16,4
Эффективность очистки, %	92,5–94,5	35,3–35,8	40,0–43,7	36,8–37,8	59,0–59,5

Как показывают данные, эффективность очистки от нефтепродуктов составила 59,5 % в варианте № 5, что в 1,7 раза выше по сравнению с вариантом № 2, в 1,4–1,5 раза выше по сравнению с вариантом № 3 и в 1,6 раза выше по сравнению с вариантом № 4.

Результаты микробиологического анализа субстратов приведены в табл. 3.

По сравнению с исходным субстратом, количество УВОМ и микроскопических грибов возросло практически во всех исследуемых вариантах, появились бактерии р. *Azotobacter*, а количество олигонитрофилов уменьшилось в десятки раз. В опытных вариантах № 2–5, по сравнению с исходным субстратом, количество УВОМ увеличилось в 1,5–2,0 раза, появились микроскопические грибы, что свидетельствует об интенсификации процесса биодеструкции углеводородов нефти. Появление бактерий р. *Azotobacter* указывает на снижение токсичности субстрата.

Таблица 3  
Микробиологический анализ субстратов через 3 мес.

Показатель	Варианты способа очистки НЗП				
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
Рецептура	Исходная почва	НЗП : опил	НЗП : опил : суспензия УВМ	НЗП : карбонизат	НЗП : биосорбент
Общее количество микроорганизмов, кл/г	$6,4 \cdot 10^5$	$3,8 \cdot 10^5$	$5,2 \cdot 10^5$	$3,9 \cdot 10^5$	$9,1 \cdot 10^5$
Сапрофитные бактерии, КОЕ/г	$(5,4 \pm 0,7) \cdot 10^7$	$(5,4 \pm 0,7) \cdot 10^7$	$(5,2 \pm 0,7) \cdot 10^7$	$(2,5 \pm 0,5) \cdot 10^7$	$(3,5 \pm 0,6) \cdot 10^7$
УВМ, выросшие на среде К, КОЕ/г	$(4,5 \pm 2) \cdot 10^6$	$(2,8 \pm 0,2) \cdot 10^8$	$(3,3 \pm 0,2) \cdot 10^8$	$(2,9 \pm 0,16) \cdot 10^8$	$(4,3 \pm 0,18) \cdot 10^8$
УВМ, выросшие на среде Таусона, КОЕ/г	$(1,65 \pm 0,4) \cdot 10^7$	$(1,6 \pm 0,1) \cdot 10^8$	$(0,5 \pm 0,1) \cdot 10^9$	$(2,1 \pm 0,2) \cdot 10^9$	$(3,3 \pm 0,2) \cdot 10^9$
Бактерии р. <i>Azotobacter</i> , % обрастания мочков	85	95	95	90	100
Олигонитрофилы, КОЕ/г	$(1,3 \pm 0,11) \cdot 10^9$	$(9,7 \pm 0,9) \cdot 10^7$	$(8,2 \pm 0,9) \cdot 10^7$	$(3,7 \pm 0,6) \cdot 10^7$	$(4 \pm 1,8) \cdot 10^6$
Актиномицеты, КОЕ/г	$(1,1 \pm 0,3) \cdot 10^9$	$(1,6 \pm 0,1) \cdot 10^8$	$(1,4 \pm 0,3) \cdot 10^8$	$(1,7 \pm 0,2) \cdot 10^8$	$(1,5 \pm 0,3) \cdot 10^8$
Микроскопические грибы, КОЕ/г	Отсутствуют	Отсутствуют	$(0,5 \pm 0,1) \cdot 10^6$	$(0,5 \pm 0,7) \cdot 10^6$	$(2,0 \pm 1,3) \cdot 10^6$



Углевородородокисляющие микроорганизмы, выделенные из НЗП на среде Таусона, представлены на рис. 2.

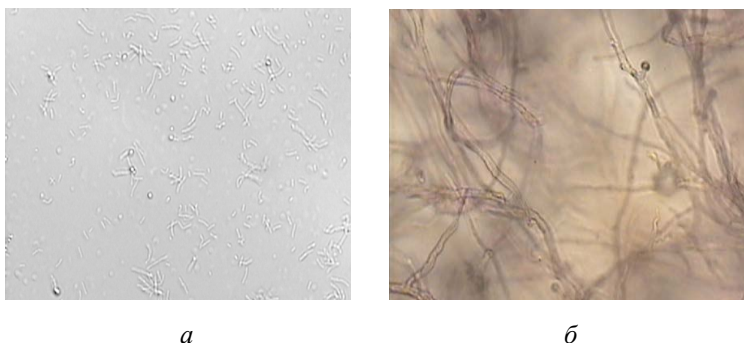


Рис. 2. Углевородородокисляющие бактерии (а) и гифы актиномицета (б), выделенные из НЗП на среде Таусона. Увеличение  $\times 800$

Полученный биосорбент на основе карбонизата рекомендует-ся использовать в технологии биоремедиации на специальных технологических комплексах, которые принимают и очищают нефтезагрязненную почву на специальных площадках биореме-диации.

Технологическая схема очистки нефтезагрязненной почвы с помощью биосорбента на основе карбонизата представлена на рис. 3.

Процесс очистки нефтезагрязненной почвы с помощью био-сорбента на основе карбонизата состоит из шести основных эта-пов: выбор и организация технологической площадки, доставка НЗП на технологическую площадку, размещение НЗП на пло-щадке временного хранения, размещение НЗП на технолого-ической площадке, фиторемедиация и отгрузка очищенной почвы потребителю.

Технологическая площадка для проведения очистки нефте-загрязненных почв должна соответствовать экономическим (ка-тегория и целевое назначение земель, транспортная доступность и т.д.), технологическим (климатические условия, рельеф и при-родные особенности территории и т.д.) и экологическим (физико-химические характеристики почвы, отсутствие загрязнения и т.д.) критериям.

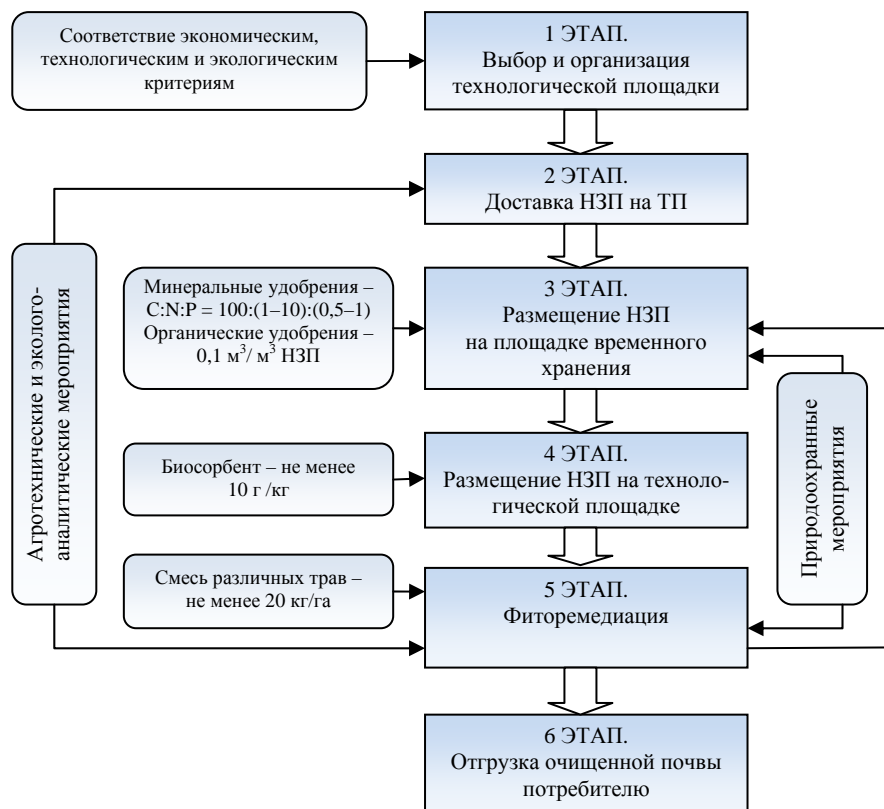


Рис. 3. Технологическая схема очистки нефтезагрязненной почвы с применением биосорбента на основе карбонизата

После доставки НЗП на технологическую площадку следует выполнить ряд агротехнических и эколого-аналитических работ. К агротехническим мероприятиям относится выравнивание загрязненной почвы по всей территории (толщина слоя без учета изолирующего слоя не более 30 см), рыхление, перемешивание и полив. На каждой технологической стадии до отгрузки очищенной почвы потребителю проводят определение нефтепродуктов, контролируют влажность и анализируют микробиологические показатели почвы.

После внесения удобрений по площадке равномерно размещают биосорбент. На основании полученных экспериментальных данных доза вносимого биосорбента составляет не менее 2 т на 1 га нефтезагрязненной площади при уровне нефтяного загрязнения не более 50 г/кг. При степени загрязнения более 50 г/кг рекомендуется увеличить дозу вносимого биосорбента.

Основные требования при использовании биосорбента на основе карбонизата в технологии биоремедиации:

1) равномерное распределение биосорбента на нефтезагрязненном участке (рыхление, перемешивание);

2) обеспечение оптимальных условий процесса очистки: температура – не менее 5 °С, влажность – не менее 60–70 %.

Для интенсификации процесса очистки НЗП необходимо добавлять минеральные удобрения, содержащие азот и фосфор. В качестве источников азота могут быть использованы минеральные удобрения: аммиачная селитра  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , сульфат аммония  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , калийная селитра  $\text{KNO}_3$ , мочевины  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ . В качестве фосфорных удобрений используются одно- или двухзамещенные фосфаты калия, аммония или кальция  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{CaHPO}_4$  и др. Для подкисления почвы необходимо использовать карбонат кальция, а для подщелачивания НЗП – добавлять известь.

Необходимость дополнительного внесения биосорбента зависит от степени загрязнения почвы, это должно регулироваться в процессе мониторинга.

Во время биоремедиации и фиторемедиации осуществляют природоохранные мероприятия, а именно отведение сточных вод на специальные установки по очистке воды.

На основании проведенных экспериментальных исследований можно сделать следующие выводы:

1. В технологии биоремедиации нефтезагрязненных почв можно использовать биосорбент на основе карбонизата и углерододокисляющих микроорганизмов.

2. По сравнению с традиционными способами биоремедиации, использование биосорбента на основе карбонизата в технологии биоремедиации НЗП позволяет увеличить эффективность очистки в 1,7 раза.

3. Оптимальными условиями проведения процесса являются: влажность – 60–70 %, температура – не менее 5 °С, равномерное распределение биосорбента на площадке. Доза вносимого биосорбента составляет не менее 2 т на 1 га нефтезагрязненной площади при уровне нефтяного загрязнения менее 50 г/кг.

### Библиографический список

1. Давыдов С.Л., Тарасова В.И. Нефть и нефтепродукты в окружающей среде: учеб. пособие / Рос. ун-т дружбы народов. – М., 2004. – 163 с.
2. Логинов О.Н. Биотехнологические методы очистки окружающей среды от техногенных загрязнителей. – Уфа: Реактив, 2000. – 100 с.
3. Каменщиков Ф.А., Богомольный Е.И. Нефтяные сорбенты. – Ижевск; М.: Институт компьютерных исследований, 2003. – 268 с.
4. Имобилизованные клетки микроорганизмов / А.П. Синицын, Е.И. Райнина, В.И. Лозинский, С.Д. Спасов. – М.: Изд-во МГУ, 1994. – 288 с.
5. Белик Е.С., Рудакова Л.В. Получение биосорбента на основе карбонизата для очистки нефтезагрязненных почв и грунтов // Экология и промышленность России. – 2013. – № 11. – С. 48–52.
6. Экологически безопасный способ утилизации осадков сточных вод биохимических очистных сооружений с получением углеродсодержащих сорбционных материалов / Я.И. Вайсман, И.С. Глушанкова, М.С. Дьяков, М.Б. Ходяшев // Вода: химия и экология. – 2011. – № 3. – С. 14–24.
7. Практикум по микробиологии: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов [и др.] – М.: Академия, 2005. – 608 с.

### References

1. Davydov S.L., Tarasova V.I. Neft i nefteproducty v okruzhayushchej srede [Oil and petroleum products in the environment]. Moscow, 2004. 163 p.
2. Loginov O.N. Biotekhnologicheskie metody ochistki okruzhayushchej sredy ot tekhnogennykh zagryazniteley [Biotechnological methods of cleaning the environment from man-made pollutants]. Ufa: Reactive, 2000. 100 p.
3. Kamenshchikov F.A., Bogomolnyi E.I. Neftyanye sorbenty [Oil sorbents]. Izhevsk; Moscow: Institut kompyuternykh issledovaniy, 2003. 268 p.
4. Sinitsyn A.P., Rajnina E.I., Lozinski V.I., Spasov S.D. Immobilizovannye kletki mikroorganizmov [Immobilized microbial cells]. Moscow, 1994. 288 p.
5. Belik E.S., Rudakova L.V. Poluchenie biosorbenta na osnove karbonizata dlya ochistki neftezagryaznennykh pochv i gruntov [Preparation of biosorbent based carbonizate for cleaning oil-contaminated soil and ground]. *Ekologiya i promyshlennost Rossii*, 2013, no. 11, pp. 48–52.
6. Vaisman Y.I., Glushankova I.S., Dyakov M.S., Hodayshev M.B. Ecologicheski bezopasnyi sposob utilizatsii osadkov stochnykh vod biokhimicheskikh ochistnykh sooruzheniy s polucheniem ugleterosoderzhashchikh sorbtсионных materialov [Environmentally safe method of disposal of sewage sludge biochemical treatment facilities with obtaining carbon sorption materials]. *Voda: khimiya i ekologiya*, 2011, no. 3, pp. 14–24.
7. Netrusov A.I. [et al.] Praktikum po mikrobiologii [Workshop of the Microbiology]. Moscow: Akademiya, 2005. 608 p.

**E. Belik**

**INTENSIFICATION OF BIOREMEDIATION  
OF OIL-CONTAMINATED SOILS WITH BIOSORBENTS  
ON THE BASIS CARBONIZATE**

The method for intensification of bioremediation technologies of oil-contaminated soils using biosorbent based carbonizate are provided. The results of laboratory tests for cleaning oil-contaminated soils using biosorbent are suggested. The recommendations on the use of biosorbent for bioremediation of oil-contaminated soil are developed.

**Keywords:** oil-contaminated soil, bioremediation, biosorbent, hydrocarbon-oxidizing microorganisms.

*Белик Екатерина Сергеевна (Пермь, Россия) – ст. преподаватель кафедры охраны окружающей среды, Пермский национальный исследовательский политехнический университет (614990, г.Пермь, Комсомольский пр., 29, e-mail: zhdanova-08@mail.ru).*

*Belik Ekaterina (Perm, Russian Federation) – Senior lecturer, Department of Environmental Protection, Perm National Research Polytechnic University (614990, Perm, Komsomolsky av., 29, e-mail: zhdanova-08@mail.ru).*