

УДК 502:57.022:579.2:622.692.4
AGRIS P34

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ВЕРМИКУЛЬТУРЫ И
БИОПРЕПАРАТОВ «БАЙКАЛ», «ВОСТОК», «ТАМИР»
ДЛЯ ОЧИСТКИ ПОЧВ ОТ МАЗУТА**

©*Чачина С. Б.*, SPIN-код: 9530-2880, Scopus Author ID: 57190976453,
ResearcherID: P-4966-2016, канд. биол. наук,
Омский государственный технический университет, г. Омск, Россия, ksb3@yandex.ru
©*Чачина Е. П.*, Омский государственный технический университет,
г. Омск, Россия

**THE EFFICIENCY OF COMPLEX APPLICATION OF VERMICULTURE
AND BIOLOGICAL PRODUCTS BAIKAL, VOSTOK, TAMIR
FOR SOIL PURIFICATION FROM FUEL OIL**

©*Chachina S.*, SPIN-code: 9530-2880, Scopus Author ID: 57190976453,
ResearcherID: P-4966-2016, Ph.D., Omsk State Technical University,
Omsk, Russia, ksb3@yandex.ru
©*Chachina E.*, Omsk State Technical University, Omsk, Russia

Аннотация. Разработана технология рекультивации почв, загрязненных мазутом в условиях Западной Сибири с использованием микробиологических препаратов и дождевых червей. Дождевые черви имеют большой потенциал для удаления углеводородов из почвы. Результаты позволяют оценить эффективность биоремедиации загрязненных почв. Способ очистки и восстановления экологических функций субстратов, загрязненных мазутом и другими нефтепродуктами, заключается в том, что субстрат обрабатывали биопрепаратами, проводили отвальную обработку почвы и паровали в течение одного месяца, затем вносились дождевые черви. В процессе рекультивации почв хорошо зарекомендовал себя препарат «Тамир» совместно с дождевыми червями *E. fetida* — эффективность 80–82%. Препарат «Восток» имел низкую эффективность рекультивации со всеми видами дождевых червей.

Abstract. A technology has been developed for the recultivation of soils contaminated with fuel oil in Western Siberia using microbiological preparations and earthworms. Earthworms have great potential for removing hydrocarbons from the soil. The results allow evaluating the effectiveness of bioremediation of polluted soils. The method of cleaning and restoring the ecological functions of substrates contaminated with fuel oil and other petroleum products was that the substrate was treated with biologics, spent soil treatment was carried out and steamed for one month, then the earthworms were applied. In the process of soil recultivation, the drug Tamir together with the earthworms of *E. fetida* proved to be well proven — the effectiveness of 80–82%. The drug Vostok had low efficiency of reclamation with all types of earthworms.

Ключевые слова: рекультивация, дождевые черви, микроорганизмы.

Keywords: reclamation, earthworms, microorganisms.

Введение

В связи с постоянными разливами, происходящими при добыче и транспортировке нефти, актуальность проблемы рекультивации нефтезагрязненных почв все более возрастает, поскольку при разливах нефти практически полностью подавляется жизнедеятельность биоты, происходят необратимые изменения микробиологических свойств почвы и нарушение её питательного, водно-воздушного режима. Статистическая информация об общем количестве порывов нефтепроводов опубликована в «Государственных докладах о состоянии окружающей среды», в 2012 году их количество составило 28 тыс. Согласно информации Greenpeace, потери нефтяного сырья при добыче и транспортировке в России составляют около 1%, а, например, по данным НП «Центр экологии ТЭК» — 3,5-4,5%. Соответственно при текущем уровне добычи в 510 млн т в год потери составляют от 18 до 23 млн т ежегодно, в денежном выражении — от 14,2 млрд до 17,2 млрд долл. (<https://goo.gl/DPek7b>).

Разливы мазута встречаются реже, чем разливы нефти, но наносят серьезный урон природным экосистемам и труднее поддаются рекультивации.

Известен приём технической рекультивации, включающий снятие загрязнённого слоя почвы, транспортировку и складирование его на специально отведённые для этой цели участка, т.е. замена почвы [1]. Безусловно, этот приём пригоден не для всех случаев загрязнения почвогрунтов. Он может быть рекомендован только при небольших разливах нефти на ограниченных участках и при проникновении нефти на глубину не более 10 см.

Более перспективным методом рекультивации нефтезагрязненных почв является метод биоремедиации, основанный на использовании микроорганизмов, способных утилизировать углеводороды в процессе своей жизнедеятельности [2].

Как показали исследования последних лет, более высокая эффективность биоремедиации почвы может быть достигнута при введении в загрязнённую 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 делает загрязняющие вещества доступными для микроорганизмов.

Было установлено, что *Lumbricus terrestris* и *E. fetida* выживают в почве, загрязнённой 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].

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

Еом I. С. 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 нефтезагрязнённой почве составляла 18% в течение 28 дней нахождения в почве и 8% — в течение 56 дней [6].

Таким образом, проведенный анализ литературы показывает, что использование дождевых червей *E. fetida* для биоремедиации нефтезагрязненных почв при содержании углеводородов в почве не более 4.0 г/кг является эффективным приемом. При этом выживаемость червей, находящихся в нефтезагрязнённой почве, достаточно высока, а содержание углеводородов в почве, содержащей червей *E. fetida*, снижается до допустимого уровня. Вторым фактором, повышающим эффективность биоремедиации нефтезагрязненных почв, является присутствие в составе очищаемой почвы различных микроорганизмов, повышающих выживаемость дождевых червей и усиливающих процесс биоремедиации почвы.

Учитывая вышеизложенное, задачей настоящего исследования было изучение эффективности биоремедиации нефтезагрязненной почвы при использовании дождевых червей в присутствии фотосинтезирующих бактерий, дрожжей, грибов и оценка выживаемости дождевых червей в почве, загрязненной мазутом.

Материалы и методы

Для проведения вермиремедиации нефтезагрязненной 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).

В качестве источника молочнокислых, азотофиксирующих бактерий использовали биопрепарат «Байкал-Эм» (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 выше 50 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.

Препарат «Восток» — это концентрированная культура эффективных микроорганизмов, содержащая полезные микробы в устойчивом неактивном состоянии. Основу препарата составляют фотосинтетические и молочнокислые бактерии, дрожжи, актиномицеты и ферментные грибки. Применение ЭМ-препаратов позволяет решать проблемы загрязнения окружающей среды и других негативных последствий индустриализации естественными методами.

В процессе работы была использована методика определения идентификации микроорганизмов с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии.

Масс-спектрометрическая идентификация микроорганизмов производилась на масс-спектрометре MicroFlex (Bruker, Германия).

Каждый образец тестировали в 4-х повторях. Снятие спектров проводилось в автоматическом режиме. Режим детекции стандартный — MBT_FC. Диапазон спектра от 2-20 kDa. С каждого образца получали 240 спектров. Идентификация производилась с помощью базы данных Biolyzer 3 (Bruker, Германия). Точность идентификации приближается к 100% (Kasinatan V et al., 2011).

Состав биопрепарата «Байкал-Эм1»: бактерии *Paenibacillus pabuli*, *Azotobacter vinelandii*, *Lactobacillus casei*, *Clostridium limosum*, *Cronobacter sakazakii*, *Rhodotorulla mucilaginosa*, *Cryptococcus albidus*, дрожжи *Saccharomyces*, *Candida lipolitica*, *Candida norvegensis*, *Candida guilliermondii*, грибы *Aspergillus*, *Penicillium*, *Actinomycetales*. (КОЕ)= $2 \cdot 10^{11}$ микроорганизмов в 1 мл.

Состав биопрепарата «Тамир»: *Paenibacillus pabuli*, *Rhodotorulla mucilaginosa*, *Cryptococcus albidus*, дрожжи *Saccharomyces*, *Candida lipolitica*, *Enterobacter cloacae*, грибы

Aspergillus, Penicillium, Actinomycetales. (КОЕ)= $2 \cdot 10^{11}$ микроорганизмов в 1 мл. (КОЕ)= $2 \cdot 10^{11}$ микроорганизмов в 1 мл.

Состав биопрепарата «Восток»: *Mycobacterium intracelulara, Lactobacteria paracasei, Lactobacteria casei, Sacharomyces*. (КОЕ)= $2 \cdot 10^{10}$ микроорганизмов в 1 мл.

Тест-субстратом для трех экспериментов был чернозем выщелоченный среднемогучный среднегумусный. Для того чтобы спроектировать реальные условия рекультивации была подобрана подобная почва. Почва была загрязнена в эксперименте мазутом (начальные концентрации — 50 г/кг, конечные — 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, рН — 6,45.

Почва подготовлена в соответствии с ISO. Всего было подготовлено 3 серии образцов загрязненных почв. Инкубирование экспериментальных образцов, а также контрольных образцов почвы проводилось в течение 5 месяцев с ноября 2015 г. по май 2016 г. Для каждого образца, повторность трехкратная.

Для определения содержания нефти или нефтепродуктов в почве была использована методика, предложенная институтом экспериментальной метрологии (МУК 4.1.1956-05).

Содержание нефтепродуктов в пробе (X г/кг) рассчитывали по формуле

$$X = CV/m \cdot 1000,$$

где С — концентрация нефтепродуктов в пробе, по показаниям прибора, мг/дм³; V — объем элюата, см³; m — навеска почвы, г; η — коэффициент разбавления $\eta = V_2/V_1$.

$$\eta = \frac{V_2}{V_1},$$

где V₁ — объем элюата, см³; V₂ — объем ССl₄, взятого для разбавления, см³,

Результаты экспериментов

В контрольном варианте общая численность *E. fetida* увеличилась в 2 раза, а при внесении биопрепарата «Байкал-ЭМ — 1» — в 5 раз.

В варианте с концентрацией мазута 60 г/кг без биопрепарата выживаемость червей была 50%, а с микробиологическим препаратом — 100%, и общая численность увеличилась в 1,5 раза.

При внесении в почву 100 г/кг мазута и биопрепарата «Байкал-ЭМ-1» общая численность увеличилась в 2 раза, достигла 22 экз./сосуд.

При внесении биопрепарата «Тамир» общая численность *E. fetida* увеличилась в 3,5 раз. В варианте с концентрацией мазута 60 г/кг без биопрепарата выживаемость червей была 50%, а с микробиологическим препаратом «Тамир» — 100%, и общая численность увеличилась в 2,5 раза. При внесении в почву 100 г/кг мазута и биопрепарата «Тамир» общая численность увеличилась в 2 раза, достигла 18,5 экз./сосуд.

При внесении биопрепарата «Восток» общая численность *E. fetida* увеличилась в 3,5 раз. В варианте с концентрацией мазута 60 г/кг без биопрепарата выживаемость червей была 50%, а с микробиологическим препаратом «Восток» — 100%, и общая численность увеличилась в 1,6 раза. При внесении в почву 100 г/кг мазута и биопрепарата «Восток» общая численность увеличилась в 2 раза, достигла 20 экз./сосуд (Таблица 1).

Таблица 1

ВЫЖИВАЕМОСТЬ, ОБЩАЯ ЧИСЛЕННОСТЬ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ *E. FETIDA*
 ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ МАЗУТА В ПОЧВЕ

Вариант	Общая		Индивидуальная продуктивность коконов/особь
	Численность экз/сосуд	Продуктивность коконов/сосуд	
Контроль	20±0,5	3	0,3
Байкал	48±1	4	2
Тамир	36±0,8	5	0,5
Восток	36±0,8	4,3	0,3
Мазут 60 г/кг+Байкал	14±0,2	0,6	0,1
Мазут 100 г/кг+Байкал	22±0,4	4	0,3
Мазут 60 г/кг+Тамир	23±0,4	4	0,3
Мазут 100 г/кг+Тамир	18±0,2	1,5	0,1
Мазут 60 г/кг+Восток	16±0,2	3	0,3
Мазут 100 г/кг+Восток	20±0,3	5	0,8

Рекультивация почв, загрязненных мазутом 50-100 г/кг с использованием препаратов «Байкал», «Тамир», «Восток» и вермикультуры дождевых червей

Концентрация мазута была значительно снижена в образцах почвы, содержащих дождевых червей по сравнению с образцами почвы без червей. Эффективность и скорость разрушения углеводородов мазута зависит от концентрации в почве и присутствия в почве биопрепарата «Байкал-Эм», «Тамир», «Восток». При внесении в почву мазута в количестве 60 г/кг почвы процесс рекультивации почвы занимал 5 месяцев, в ходе которого концентрация углеводородов снижалась на 70-80%. Внесение биопрепарата «Байкал», «Тамир», «Восток» оказывало существенное влияние на процесс разрушения углеводородов нефти (Таблица 2).

Таблица 2

ЭФФЕКТИВНОСТЬ УДАЛЕНИЯ МАЗУТА (концентрация 60-100 г/кг почвы)
 ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ПРИМЕНЕНИИ ВЕРМИКУЛЬТУРЫ
 И БИОПРЕПАРАТОВ «БАЙКАЛ», «ВОСТОК», «ТАМИР»

Месяц	Байкал+ <i>E. fetida</i> + Мазут 60 г/кг	Восток+ <i>E. fetida</i> + Мазут 60 г/кг	Тамир+ <i>E. fetida</i> + Мазут 60 г/кг	Контроль Мазут 60 г/кг	Байкал+ <i>E. fetida</i> + Мазут 100 г/кг	Восток+ <i>E. fetida</i> + Мазут 100 г/кг	Тамир+ <i>E. fetida</i> + Мазут 100 г/кг	Контроль Мазут 100 г/кг
декабрь	60	60	60	60	100	100	100	100
январь	36	40	43	60	74	81	90	100
февраль	25,15	38,24	25,69	59	65	68	79,14	100
март	16,03	36,52	18,75	58	34,09	29,78	39,07	98
апрель	9,04	17,69	8,53	56,9	13,33	22,7	19,07	96
Эффективность, %	84	70	84	6	86	77	80	4

В контрольном варианте, при внесении мазута 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 57 г/кг (эффективность 4%).

При введении в почву биопрепарата «Байкал-Эм» и *E. fetida* концентрация мазута в почве снизилась до 9 г/кг (эффективность 84%).

При введении в почву биопрепарата «Тамир» и *E. fetida* концентрация мазута в почве после экспозиции почвы в течение 5 месяцев снизилась до 8,5 г/кг (эффективность 84%).

При введении в почву биопрепарата «Восток» и *E. fetida* концентрация мазута в почве после экспозиции почвы в течение 5 месяцев снизилась до 17,6 г/кг (эффективность 70%) (Таблица 2).

При внесении в почву мазута в количестве 100 г/кг почвы процесс рекультивации почвы занимал 5 месяцев, в ходе которого концентрация углеводородов снижалась на 70-80 % в присутствие микробиологических препаратов.

Внесение биопрепарата «Байкал», «Тамир», «Восток» оказывало существенное влияние на процесс разрушения углеводородов (Таблица 2).

В контрольном варианте, при внесении мазута 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 96 г/кг (эффективность 4%). При введении в почву биопрепарата «Байкал-Эм» и *E. fetida* концентрация мазута в почве снизилась до 13 г/кг (эффективность 86%).

При введении в почву биопрепарата «Тамир» и *E. fetida* концентрация мазута в почве после выдержки почвы в течение 5 месяцев снизилась до 19 г/кг (эффективность 80%).

При введении в почву биопрепарата «Восток» и *E. fetida* концентрация мазута в почве после выдержки почвы в течение 5 месяцев снизилась до 22 г/кг (эффективность 77%) (Таблица 2).

Заключение

Предложена методика рекультивации нефтезагрязненных почв с содержанием мазута до 100 г/кг молочнокислыми, азотофиксирующими, фотосинтезирующими бактериями и дождевыми червями. Способ очистки и восстановления экологических функций субстратов, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, заключался в обработке субстрата биопрепаратом, затем отвальная обработка почвы полигона, парование в течение одного месяца. После чего почву заселяют дождевыми червями в количестве 1000 шт./м², в качестве питательного субстрата использовали навоз КРС в дозе 1т/га. В результате эксперимента, проводимого в течение 5 месяцев, установлено значительное (на 95-97%) снижение концентрации углеводородов в почве, содержащей червей и биопрепарат «Байкал-Эм-1».

В процессе рекультивации почв, загрязненных мазутом 60-100 г/кг с использованием биопрепаратов «Байкал», «Тамир», «Восток» высокая эффективность 86% отмечена при совместном использовании препарата «Байкал» и *E. fetida*.

В процессе рекультивации почв, загрязненных нефтью 100 г/кг хорошо зарекомендовал себя препарат «Тамир» совместно с дождевыми червями *E. fetida* — эффективность 80-82%.

Препарат «Восток» имел низкую эффективность рекультивации со всеми видами дождевых червей.

Список литературы:

1. Кузнецов А. Е. Прикладная экобиотехнология. М.: Бином. Лаб. знаний, 2012. 629 с.
2. Yeung A. T., Gu Y. Y. A review on techniques to enhance electrochemical remediation of contaminated soils // Journal of hazardous materials. 2011. Vol. 195. P. 11-29.

3. Rodriguez-Campos J., Dendooven L., Alvarez-Bernal D., Contreras-Ramos S. M. Potential of earthworms to accelerate removal of organic contaminants from soil: a review // *Applied Soil Ecology*. 2014. Vol. 79. P. 10-25.
4. Hanna S. H. S., Weaver R. W. Earthworm survival in oil contaminated soil // *Plant and soil*. 2002. Vol. 240. N 1. P. 127-132.
5. Åslund, M. W., Stephenson, G. L., Simpson, A. J., & Simpson, M. J. Comparison of earthworm responses to petroleum hydrocarbon exposure in aged field contaminated soil using traditional ecotoxicity endpoints and 1H NMR-based metabolomics // *Environmental pollution*. 2013. Vol. 182. P. 263-268.
6. Eom I. C., Rast, C., Veber A. M., Vasseur P. Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2007. Vol. 67. N. 2. P. 190-205.

References:

1. Kuznetsov, E. A. (2012). *Applied ecobiotechnology*. Moscow: BINOM. 629.
2. Yeung, A. T., & Gu, Y. Y. (2011). A review on techniques to enhance electrochemical remediation of contaminated soils. *Journal of hazardous materials*, 195, 11-29.
3. Rodriguez-Campos, J., Dendooven, L., Alvarez-Bernal, D., & Contreras-Ramos, S. M. (2014). Potential of earthworms to accelerate removal of organic contaminants from soil: a review. *Applied Soil Ecology*, 79, 10-25.
4. Hanna, S. H. S., & Weaver, R. W. (2002). Earthworm survival in oil contaminated soil. *Plant and soil*, 240(1), 127-132.
5. Åslund, M. W., Stephenson, G. L., Simpson, A. J., & Simpson, M. J. (2013). Comparison of earthworm responses to petroleum hydrocarbon exposure in aged field contaminated soil using traditional ecotoxicity endpoints and 1H NMR-based metabolomics. *Environmental pollution*, 182, 263-268.
6. Eom, I. C., Rast, C., Veber, A. M., & Vasseur, P. (2007). Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67(2), 190-205.

Работа поступила
в редакцию 09.09.2018 г.

Принята к публикации
15.09.2018 г.

Ссылка для цитирования:

Чачина С. Б., Чачина Е. П. Эффективность комплексного применения вермикультуры и биопрепаратов «Байкал», «Восток», «Тамир» для очистки почв от мазута // *Бюллетень науки и практики*. 2018. Т. 4. №10. С. 133-139. Режим доступа: <http://www.bulletennauki.com/chachina> (дата обращения 15.10.2018).

Cite as (APA):

Chachina, S., & Chachina, E. (2018). The efficiency of complex application of vermiculture and biological products Baikal, Vostok, Tamir for soil purification from fuel oil. *Bulletin of Science and Practice*, 4(10), 133-139. (in Russian).