

## Изучение возможности утилизации отходов деревопереработки для биологической очистки и детоксикации нефтешламов

Н.А. Киреева, А.А. Шамаева, А.С. Григориади, Е.И. Новосёлова  
Башкирский государственный университет

В лабораторных и полевых условиях изучена возможность использования коры и опада хвои сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) для биоочистки и детоксикации нефтешламов. Показано, что компостирование нефтешламов с сосновой корой и опадом хвои способствовало снижению его токсичности и интенсифицировало деструкцию углеводородов

In laboratory and field conditions the possibility of using *Pinus Sylvestris* bark and needles emission for the purpose of bio-purification and sludge detoxication was investigated. It is shown that composting sludges with pine bark and needles emission contributed to lowering its toxicity and stimulated hydrocarbon destruction.

Ключевые слова: биоочистка, детоксикация, нефтешламы, деструкция, углеводородокисляющие микроорганизмы

При технологических процессах, связанных с добычей, транспортировкой и переработкой нефти, образуется большое количество углеводородсодержащих отходов – нефтешламы.

Из данных литературы [1 – 5], следует, что до сих пор проблема обезвреживания нефтешламов остается весьма актуальной. Специально оборудованные для этих целей полигоны не справляются с поставленными задачами, требуют реконструкции. Цены на утилизацию постоянно растут, что влечёт за собой провоцирование производственных предприятий на несанкционированные сбросы нефтеотходов в неположенных местах, а это, естественно, наносит огромный ущерб окружающей среде.

Существующие механические, термические и физико-химические методы очистки дорогостоящи и эффективны только при определенном уровне загрязнения (как правило, не менее 5% нефти в почве). Микробиологические методы способны дополнять указанные технологии, а в определенных ситуациях не имеют альтернативы.

Нефтешламы содержат значительное количество жизнеспособных микробных клеток, в том числе и углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) [2, 5], однако процессы биодegradации тормозятся прежде всего из-за недостатка кислорода, необходимого для окисления углеводородов, и элементов питания.

В данной работе представлены результаты исследований биологической активности нефтяных шламов (численность УОМ, активность липазы, токсичность) и обоснована возможность ускорения детоксикации этих отхо-

дов при компостировании с растительными массами – корой и опадом хвои сосны обыкновенной.

### Объекты и методы

Нефтешламы вносили в вегетационные сосуды ёмкостью 10 л, на дно которых был предварительно уложен дренаж и укреплены стеклянные трубочки для улучшения аэрации. Сосуды инкубировали в термостате при температуре 25°C, поддерживая влажность почвы на уровне 60% от полной влагоёмкости. Образцы для анализа отбирали через 3, 7, 14, 21, 30, 60, 90, 180 сут. Исходная концентрация нефти составляла в нефтешламе I – 12,72%, II – 9,68%, III – 15,91%, IV – 20,44%.

В вегетационные сосуды с нефтешламами вносили кору и опад сосны из расчёта 10% масс., всё содержимое сосудов перемешивалось. Контролем служил вариант с нефтешламами без внесения коры и опада. Сосуды инкубировали в термостате при температуре 25°C, поддерживая влажность почвы на уровне 60% от полной влагоёмкости. Образцы для анализа отбирали через 3, 7, 14, 21, 30, 60, 90, 180 сут.

Параллельно изучалось естественное разложение нефтяных углеводородов в исследуемых образцах нефтешламов.

Также была исследована возможность проведения биоремедиации грунтового нефтешлама с использованием коры и опада хвойных деревьев (сосна) в полевых условиях (на полигонах). Опыт проводился в течение безморозного периода с мая по октябрь.

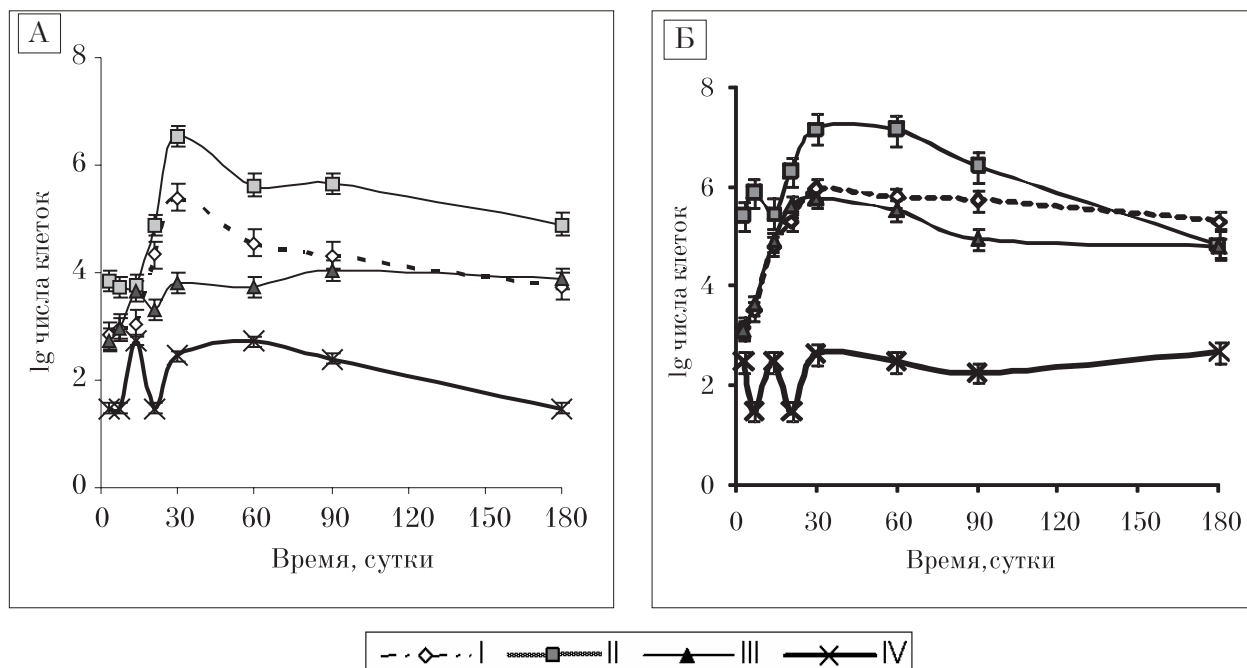


Рис. 1. Динамика численности углеводородокисляющих микроорганизмов в нефтешламах I, II, III, IV в лабораторном эксперименте А – с добавлением сосновой коры; Б – с добавлением соснового опада

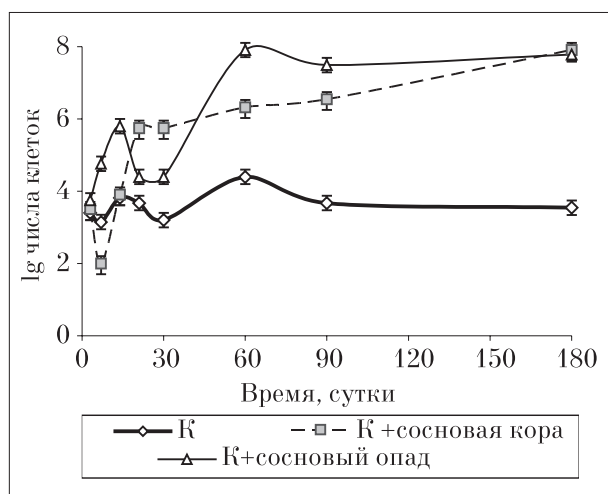


Рис. 2. Динамика численности углеводородокисляющих микроорганизмов нефтешлама II с внесением сосновой коры и опада в условиях полевого эксперимента

В качестве объекта использовали нефтешлам II. В шламонакопителе были оборудованы специальные площадки с обвалкой 3x3 м. В нефтешлам вносили кору и опад сосны обыкновенной из расчёта 10% масс. Контролем служил вариант без внесения коры и опада. Образцы для анализа отбирали через 3 сут., 1, 2 и 3 недели, 1, 2, 3, 6 месяцев после внесения коры и опада в шламонакопитель.

Критериями суждения о биологической активности исследуемых образцов служили следующие параметры: ферментативная активность, численность УОМ, фитотоксичность.

Активность липазы определялась по модифицированному нами методу К.А. Козлова с соавт. [6], каталазная активность определялась газометрическим методом [7]. Оценку степени фитотоксичности остаточных нефтепродуктов проводили по А.М. Гродзинскому [8] с помощью проростков редиса (*Raphanus sativus*), сорт Красный с белым кончиком. Степень зоотоксичности остаточных нефтепродуктов на разных стадиях биоремедиации оценивали, используя коллембол *Folsomia candida* [9]. Определение численности углеводородокисляющих микроорганизмов и видового состава грибов и бактерий, в том числе образцов ризосферы растений проводили в соответствии с общепринятыми методами [10]. Для учёта численности УОМ и оценки углеводородокисляющей активности микроорганизмов использовали модифицированный нами метод «нитроцеллюлозных фильтров», предложенный С.Б. Петрикевич с соавт. [11]. Определение содержания остаточных нефтепродуктов в почве проводили горячей экстракцией хлористым метиленом [12]. Статистическая обработка результатов производилась с применением программ Statistica V6.0., Microsoft Excel-2000.

### Результаты и их обсуждение

Предположение об эффективности применения для рекультивации загрязнённых не-

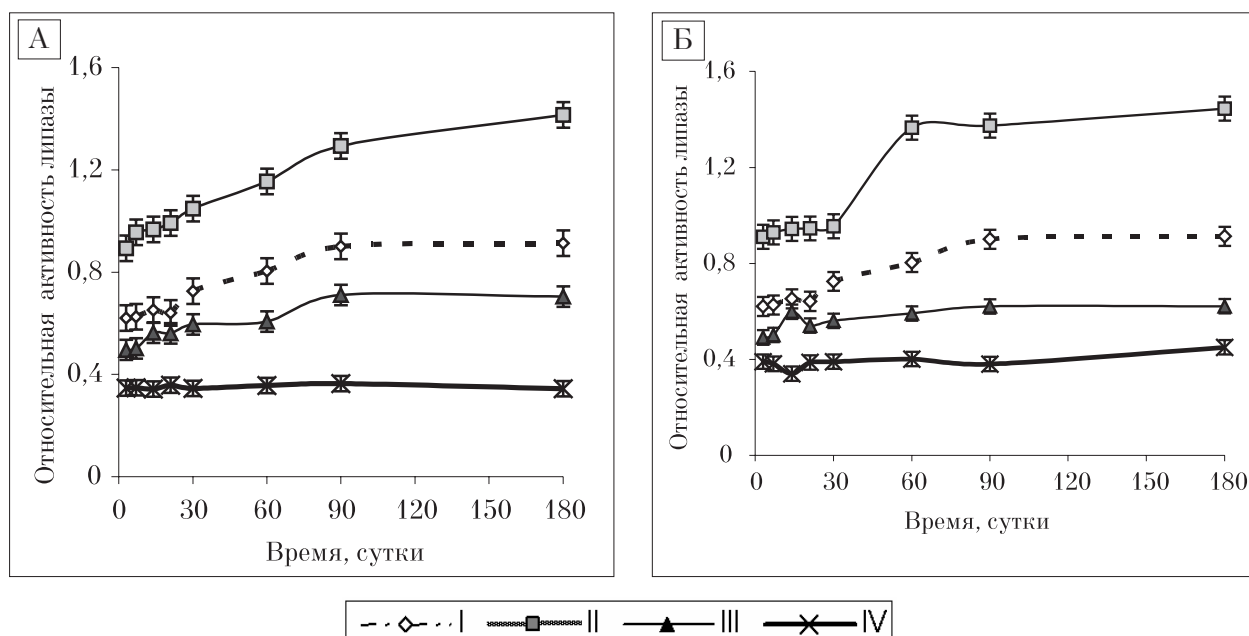


Рис. 3. Относительная активность липазы нефтешламов I, II, III, IV  
А – с добавлением коры; Б – с добавлением опада хвои

фтью почв опада хвои сосны обыкновенной было сделано на основе анализа данных литературы [13, 14] и результатов собственных исследований [15, 16]. Согласно последним в образцах почвы, отобранной вблизи скважины, значительная часть которых была покрыта хвойным опадом, наблюдалась высокая численность УОМ и наибольшая ферментативная активность.

Перед постановкой лабораторного эксперимента была проведена экспресс-оценка биологической активности опада хвои. Получены следующие данные: численность УОМ –  $10^5$  КОЕ/г, липолитическая активность  $12,1 \pm 0,08$  мл 0,1 Н КОН/г, выживаемость коллембол на гомогенизированной массе соснового опада составляла 100% с продолжительностью их жизни более 10 суток, фитотоксичность 25 УКЕ.

Для детоксикации нефтешлама нами была использована и кора хвойных деревьев. По данным литературы [14], кора хвойных обладает естественным микробным комплексом, адаптированным к природным смолам. Кроме того, Н.И. Гантимуровой с соавт. [13] показано, что под пологом хвойных лесов в почвы попадает значительное количество битумов. В гомогенизированной массе сосновой коры содержалось  $10^5$  КОЕ/г УОМ, её липолитическая активность составляла  $11,3 \pm 0,12$  мл 0,1 Н КОН/г, выживаемость коллембол составляла 100% с продолжительностью жизни более 10 суток и фитотоксичность составляла 500 УКЕ.

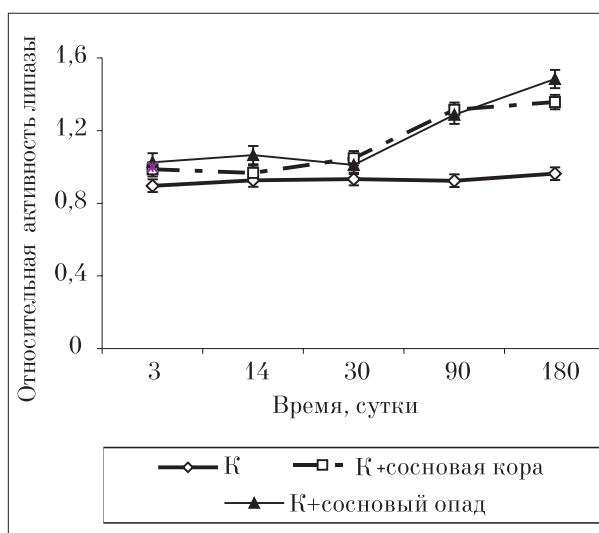


Рис. 4. Относительная активность липазы нефтешлама II в условиях полевого эксперимента

В лабораторных условиях через шесть месяцев после постановки опытов содержание остаточных углеводов в нефтешлалах I и II составило 60 – 65% от исходного количества при добавлении сосновой коры и 50 – 55% в образцах с добавлением соснового опада. При содержании нефтяных углеводов в пределах 15% масс. на начало эксперимента, в результате биоремедиации произошла деструкция 30% углеводов. В IV нефтешлала произошло незначительное снижение содержания углеводов. Вероятно, в разложении углеводов принимают участие не только аборигенная микробиота нефтешлама, активизированная нами,

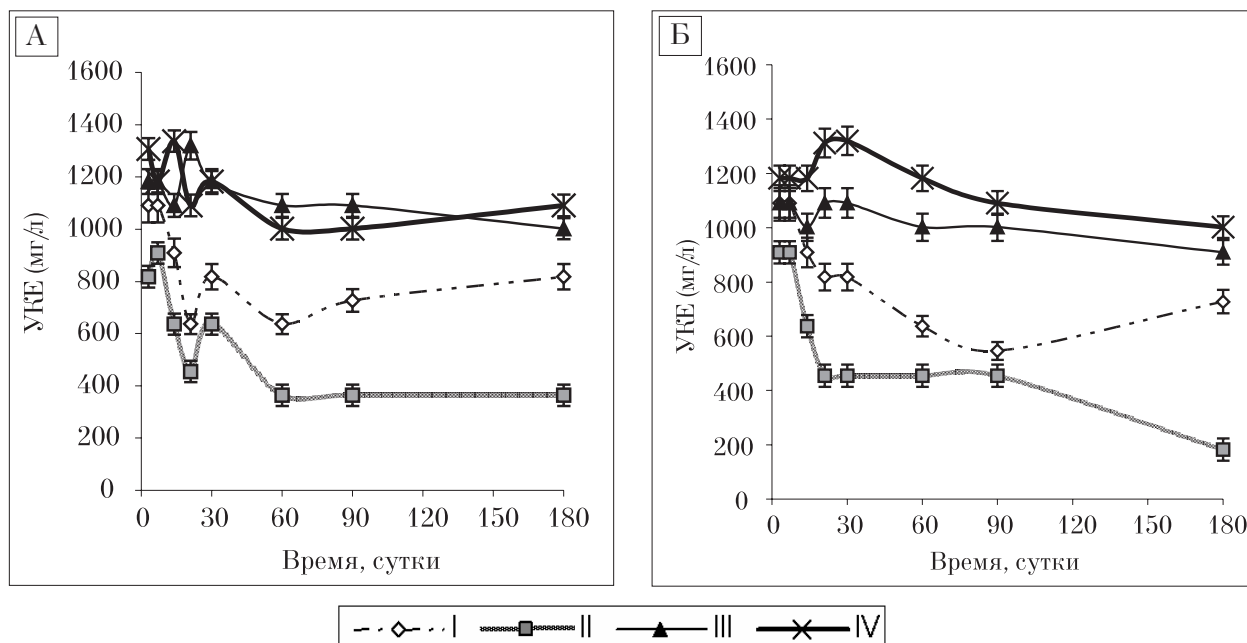


Рис. 5. Фитотоксичность образцов нефтешламов I, II, III, IV  
 А – с добавлением сосновой коры; Б – с добавлением опада

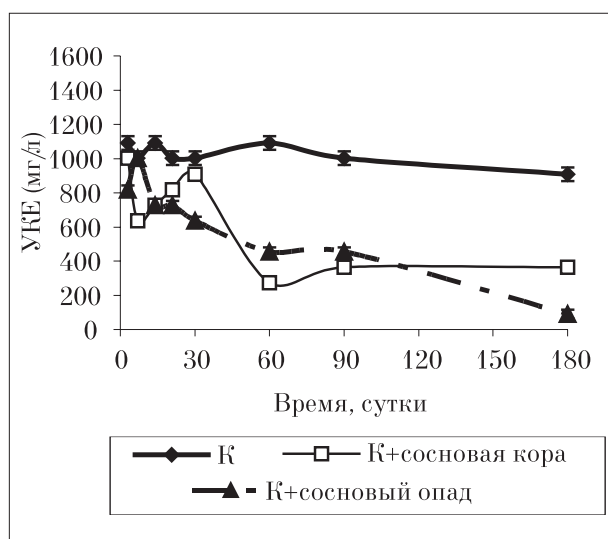


Рис. 6. Фитотоксичность нефтешлама II с внесением сосновой коры и опада по отношению к семенам редиса в условиях полевого эксперимента

но и микроорганизмы, входящие в состав этих рекультивирующих факторов.

Данные по содержанию остаточных нефтепродуктов в условиях шламонакопителя показали, что также происходило достоверное снижение содержания остаточных нефтепродуктов в образцах нефтешлама II с внесением растительных масс (до 70%).

Компостирование с растительными массами уже через месяц после начала эксперимента способствовало увеличению численности УОМ (рис. 1, 2). Углеводородокисляющие грибы были представлены видами *Fusarium sp.*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, углеводоро-

доксиляющие бактерии относились к родам *Pseudomonas* и *Rhodococcus*.

Активность липолитических ферментов в нефтешламах была низкой во всех образцах и коррелировала с концентрацией нефтяных углеводов ( $r=-0,736$ , при  $p=0,95$ ).

В образцах нефтешламов, компостированных с корой и опадом хвои сосны, в течение лабораторного и полевого экспериментов было отмечено повышение активности липазы по сравнению с фоновыми (рис. 3, 4).

Таким образом, при внесении опада происходит более существенная интенсификация активности липазы, чем в образцах с внесением сосновой коры. По-видимому, микроорганизмы опада изначально обладают более мощным липолитическим ферментным комплексом.

Одним из критериев оценки степени очистки шлама является его токсичность, которая оценивалась методом биотестирования. Так, было отмечено, что необработанный нефтешлам обладал высокой токсичностью по отношению к ногохвосткам (*Folsomia candida*), что подтверждалось их высокой смертностью. Выживаемость коллембол в необработанных образцах не превышала 25%. Внесение растительных масс способствовало значительному (до 53,4%) снижению их смертности и увеличению продолжительности жизни (в 2-3 раза).

Фитотоксичность контрольных образцов на протяжении всего эксперимента оставалась высокой и составила до 100%

в нефтешламе IV. После проведённых биоремедиационных мероприятий токсическое воздействие нефтешламов на всхожесть семян редиса снизилось, что свидетельствует о деструкции токсичных компонентов. Всхожесть семян в образцах I и II увеличилась с 20% до 70%. Наименьшей фитотоксичностью обладали образцы с внесением соснового опада (рис. 5, 6).

На основании полевых и лабораторных исследований можно заключить, что при биоремедиации нефтешламов с использованием сосновой коры и опада происходило снижение фито- и зоотоксичности до 50% в течение 6 месяцев. При этом численность углеводородокисляющих микроорганизмов на протяжении всего эксперимента была значительно выше в рекультивируемых образцах по сравнению с контролем, что свидетельствует об активно протекающих процессах биодеградации углеводородов – основных компонентов нефтешлама.

Одновременно активность липазы в рекультивируемых образцах нефтешлама превышала значения контрольного варианта, что также является показателем интенсификации деструкции углеводородов и детоксикации компонентов нефтешлама. Повышение биологической активности нефтешламов и снижение их токсичности происходит быстрее и эффективнее в образцах, компостированных с опадом, чем в образцах с внесением сосновой коры.

Таким образом, используемый способ детоксикации твёрдых нефтешламов с применением коры и опада сосны является перспективным для использования в качестве первоначального этапа ремедиации. Дальнейшую очистку обработанного сосновой корой или опадом нефтешлама предполагается проводить с использованием фитомелиорантов.

### Литература

1. Seitinger P., Baumgartner A., Schindl-Jbauer H. Die Ausbreitung von Mineralölkontaminationen im Untergrund // Erdöl-Erdgas-Kohle. 1994. V. 110. № 5. P. 211-215.
2. Турковская А.В., Панченко Л.В., Муратова А.Ю., Дубровская Е.В., Позднякова Н.Н. Использование активного ила в процессах биоремедиации // Экобиотехнология: борьба с нефтяным загрязнением окружающей среды. Тез. докл. конф. Пушкино: ИБФМ РАН, 2001. С. 73-74.
3. Габбасова И.М. Деградация и рекультивация почв Башкортостана. Уфа: Гилем, 2004. 284 с.

4. Гилаев Г.Г., Цыбин А.В., Карасева Э.В. Биологическая утилизация нефтешламов на производственных предприятиях ОАО «Роснефть-Термнефть» // Охрана окружающей среды при освоении углеводородных ресурсов. Матер. конф. М: НТО нефтехимиков и газовиков. 2004. С. 100-101.
5. Панченко Л.В., Дубровская Е.В., Плешакова Е.В., Турковская О.В. Рекультивация почвогрунтов, загрязнённых нефтепродуктами в условиях промплощадок: опыт in situ и ex situ // Проблемы биодеградации техногенных загрязнителей окружающей среды. Матер. межд. конф. Саратов. 2005. С. 86-87.
6. Киреева Н.А., Тарасенко Е.М., Шамаева А.А., Новоселова Е.И. Влияние загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами на активность липазы // Почвоведение. 2006. № 8. С. 1005-1011.
7. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252с.
8. Гродзинский А.М., Юрчак Л.Д., Головкин Э.А., Панчук М.А., Шроль Т.С. Сравнительная оценка методов изучения аллелопатического почвоутомления // Фитотоксические свойства почвенных микроорганизмов. Л.: ВНИИСХМ, 1978. С. 53-64.
9. Ханисламова Г. М. Использование коллембол для лабораторной оценки токсичности загрязняющих почву соединений // Проблемы охраны окружающей среды на Урале. Межвуз. сб. науч. трудов. Уфа, 1995. С. 152-157.
10. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.
11. Петрикевич С.Б., Кобзев Е.Н., Шкидченко А.Н. Оценка углеводородокисляющей активности микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. 2003. Т. 39. № 1. С. 25-30.
12. McGill W. B., Rowell M. J. Determination of oil content of oil contaminated soil // Sci. Total Environ. 1980. V 14. № 3. P. 245-253.
13. Гантимурова Н.И., Родынюк И.С., Гаджиева И.М. Вопросы метаболизма азота в дерново-подзолистых почвах со вторым гумусовым горизонтом // Вопросы метаболизма почвенных микроорганизмов. Новосибирск: Наука, 1981. С. 3-37.
14. Экология микроорганизмов / Под ред. А.И. Петрусова. М.: Изд. центр «Академия», 2004. 272 с.
15. Киреева Н.А., Шамаева А.А., Салахова Г.М. Видовое разнообразие углеводородокисляющих микроорганизмов в почвах Башкортостана при нефтяном загрязнении и их применение при рекультивации // Популяции в пространстве и времени. Сб. матер. VIII Всеросс. популяц. семинара. Н.Новгород. 2005. С. 145-146.
16. Шамаева А.А. Исследование процессов биоремедиации почв и объектов, загрязнённых нефтяными углеводородами. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа: ИБ УНЦ РАН, 2007. 23 с.