

*На правах рукописи*



ЕРОХИНА НАТАЛИЯ ИЛЬЯСОВНА

**ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА  
ИЛА СТОЧНЫХ ВОД И ВОЗМОЖНОСТЬ ЕГО  
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БИОРЕМЕДИАЦИИ  
НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ**

03.02.08 – экология (биологические науки)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Уфа – 2012

Работа выполнена на кафедре биохимии и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения Высшего профессионального образования «Башкирский государственный университет»

**Научный руководитель:** доктор биологических наук, профессор  
**Киреева Наиля Ахняфовна**

**Официальные оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
**Суюндуков Я依ль Тухватович**  
доктор биологических наук, профессор  
**Селивановская Светлана Юрьевна**

**Ведущая организация:** **Южный Федеральный университет**  
(г. Ростов-на-Дону)

Защита диссертации состоится «29» мая 2012г. в 14-00 часов на заседании Объединенного диссертационного Совета ДМ 002.136.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт биологии Уфимского научного центра Российской академии наук по адресу: 450054, г. Уфа, пр. Октября, д. 69, тел.: 235-53-62, e-mail: [ib@anrb.ru](mailto:ib@anrb.ru).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждения Российской академии наук Института биологии УНЦ РАН, с авторефератом – в сети Интернет по адресу <http://ib.anrb.ru> и на сайте ВАК Минобрнауки РФ.

Автореферат разослан «27» апреля 2012г.

Ученый секретарь Объединенного  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук, доцент



Уразгильдин Р.В.

**Актуальность исследования.** Биологические очистные сооружения действуют на предприятиях нефтепереработки и нефтехимии Республики Башкортостан с конца 40-х годов XX века. Очистка сточных вод от примесей органического происхождения осуществляется микроорганизмами, состав которых устанавливается самопроизвольно и регламентируется составом загрязнителей. По данным экологических служб России накопления ила на предприятиях нефтехимпереработки, составляют 2/3 всех отходов этой отрасли, продолжая непрерывно увеличиваться. В связи с этим проблема обработки, удаления, ликвидации, вовлечения ила в дальнейший технологический процесс или использование в других отраслях народного хозяйства приобретает все большую актуальность.

Ил биологической очистки сточных вод образован в результате использования природных механизмов по самоочищению от загрязнителей, поэтому перспективным для утилизации следует признать те направления, в которых его вовлекают в естественный природный цикл веществ в биосфере для ликвидации нарушений природных экосистем.

Добыча нефти, транспортировка и переработка ее часто связаны с утечкой углеводородов, что приводит к ухудшению экологической ситуации. Восстановление нефтезагрязненных земель в настоящее время является одной из актуальных экологических проблем. Технические средства не способны обеспечить полной очистки загрязненных объектов. Однако процесс естественного восстановления исходных фитоценозов, на загрязненных нефтью почвах очень длителен и может занимать десятки лет. Это вызывает необходимость разработки более эффективных приемов рекультивации, позволяющих ускорить процессы деструкции нефтепродуктов без потери биологических свойств почв.

В иле биологической очистки нефтесодержащих сточных вод имеются штаммы активных нефтеразрушающих микроорганизмов (Трубникова и др., 2002), которые в сочетании с высокими удобрительными свойствами ила и абиотическими факторами окружающей среды должны способствовать ускоренному разложению углеводородов нефти. Представляется целесообразным найти единый путь решения таких важных экологических проблем, как утилизация ила и рекультивация нефтезагрязненных почв. Исходя из этого, сформулированы цель и основные задачи исследования.

**Целью диссертационной работы** явилась экологическая оценка избыточного активного ила биологической очистки предприятий нефтепереработки и нефтехимии и разработка способа его возможного применения для биоремедиации нефтезагрязненных почв.

#### **Основные задачи исследований:**

1. Выявить фитотоксичность ила различных предприятий и оценить их интегральную токсичность методами биотестирования.
2. Изучить влияние избыточного активного ила ОАО «Уфанефтехим» на микробиологические и биохимические процессы в почве.
3. Исследовать миграцию токсичных компонентов ила (транслокацию) в различные виды растений при внесении его в почву.

4. Изучить влияние внесения ила на некоторые агрохимические, биохимические и микробиологические показатели нефтезагрязненной почвы и ускорение разложения остаточных углеводов в ней.

**Научная новизна работы.** Изучены интегральные фитотоксические свойства ила и выполнены модельные опыты по изучению миграции органических и неорганических токсикантов ила в растения. Проведено биотестирование ила биологической очистки нефтесодержащих сточных вод с целью оценки интегрального токсического воздействия на теплокровных животных. Исследована динамика приоритетных органических токсикантов ила, микроорганизмов и ферментов при внесении его в нефтезагрязненную почву.

Установлено, что ил предприятий нефтепереработки (ОАО «Уфанефтехим») не фитотоксичен, тогда как ил нефтехимических предприятий (ОАО «Салаватнефтеоргсинтез») проявляет фитотоксичность. Показана связь биодоступности металлов с типом почвы и видом растения. Подтверждено мнение о необходимости индивидуальной оценки токсических свойств ила различных предприятий.

Впервые показана возможность использования ила биологической очистки нефтесодержащих сточных вод для биоремедиации нефтезагрязненных земель.

**Практическая значимость работы.** В ходе проведения исследований был разработан метод извлечения и количественного определения содержания бенз(а)пирена в илах и почвах и получен патент РФ (№2281480 «Способ экстракции полиароматических углеводов из объектов с органической и органоминеральной матрицей»).

Материалы диссертации использованы при выполнении инновационного проекта «Новая технология утилизации избыточного активного ила биологической очистки промышленных сточных вод», включенного в Государственную научно-техническую программу Республики Башкортостан на 2007-2008 г.

Разработанный способ рекультивации нефтезагрязненных земель с одновременной утилизацией ила биологической очистки нефтесодержащих сточных вод может быть использован на различных предприятиях нефтеперерабатывающего, нефтехимического и нефтегазодобывающего комплекса Урало-Поволжского региона России.

**Личное участие автора.** Автором проведены аналитический обзор литературы, получена основная часть фактических данных и проведена их интерпретация, планирование экспериментов выполнено совместно с научными руководителями.

**Обоснованность выводов и достоверность результатов работы** обеспечены большим объемом лабораторных и полевых экспериментов и применением современных математических методов обработки полученных результатов.

**Апробация работы.** Основные положения и результаты диссертационной работы были представлены на *Международных и Всероссийских конференциях и съездах* «Промышленная экология» (Уфа, 2001), «Мониторинг, аудит и информационное обеспечение в системе медико-экологической безопасности»

(Испания, Коста Даурада, 2002), «Наука – образование – производство в решении экологических проблем» (Уфа, 2002), «Нефтепереработка и нефтехимия – 2002» (Уфа, 2002), «Экология. Химия. Отходы» (Уфа, 2003), XI Международная конференция студентов и аспирантов по фундаментальным наукам «Ломоносов – 2004» (Москва, 2004), «Современные проблемы медицины труда» (Уфа, 2005), «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2006), «Экология и биология почв» (Ростов-на-Дону, 2007), «Урбоэкосистемы: проблемы и перспективы развития» (Ишим, 2008), V Всероссийский съезд общества почвоведов им. В. В. Докучаева (Ростов-на-Дону, 2008), «Экологические проблемы природных и урбанизированных территорий» (Астрахань, 2008, 2009), «Экологические проблемы промышленных городов» (Саратов, 2009), «Мавлютовские чтения» (Уфа, 2009), «Актуальные проблемы изучения биоты Южного Урала и сопредельных территорий» (Орск, 2010), «Наука, образование, производство в решении экологических проблем (Экология – 2011)» (Уфа, 2011), «Биологический мониторинг природно-техногенных систем» (Киров, 2011).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 25 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК и получен 1 патент РФ на изобретение.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 337 источников, в том числе 43 на иностранных языках, и приложения. Работа содержит 173 страниц текста, иллюстрирована 18 рисунками и включает 21 таблиц.

**Благодарности.** Автор выражает искреннюю благодарность и признательность за неоценимую помощь и поддержку научному руководителю д.б.н., проф. Н.А. Киреевой, д.т.н. Л. И. Трубниковой, к.б.н. А. С. Григориади, вед. инж. Якуповой А. Б. за активное участие в обсуждении результатов, а также всем коллегам и соавторам публикаций.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Глава 1. Влияние нефти и нефтепродуктов на компоненты почвенной экосистемы и проблемы рекультивации нефтезагрязненных почв (обзор литературы)**

Приведен обзор литературы о влиянии нефти и нефтепродуктов на компоненты почвенной экосистемы и рассмотрены проблемы рекультивации нефтезагрязненных почв. Представлены сведения о составе и способах утилизации избыточного активного ила биологической очистки нефтесодержащих сточных вод. Обобщены данные о миграции токсикантов промышленных отходов в растения и о методах биотестирования для оценки состояния окружающей среды. На основании критического анализа данных литературы определена методология и основные направления исследований.

### **Глава 2. Объекты и методы исследований**

Объектами исследования являлись избыточный активный ил биологических очистных сооружений (БОС) ОАО «Уфанефтехим», ОАО «Салаватнефтеоргсинтез», а так же нефть Арланского месторождения, почва в промзоне ОАО «Уфанефтехим».

В качестве объектов сравнения использовали ил коммунальных очистных сооружений поселка Приютово, в котором отсутствуют крупные промышленные предприятия, а так же почва с территории завода, не контактировавшая с илом и чернозем типичный из местности, удаленной от расположения нефтехимических производств.

Для изучения миграции токсичных компонентов избыточного активного ила в растения был заложен полевой опыт на трех видах почвы: чернозем типичный, дерново-подзолистая и темно-серая лесная. Были выбраны пять видов растений: кукуруза, капуста, лук, свекла столовая и картофель.

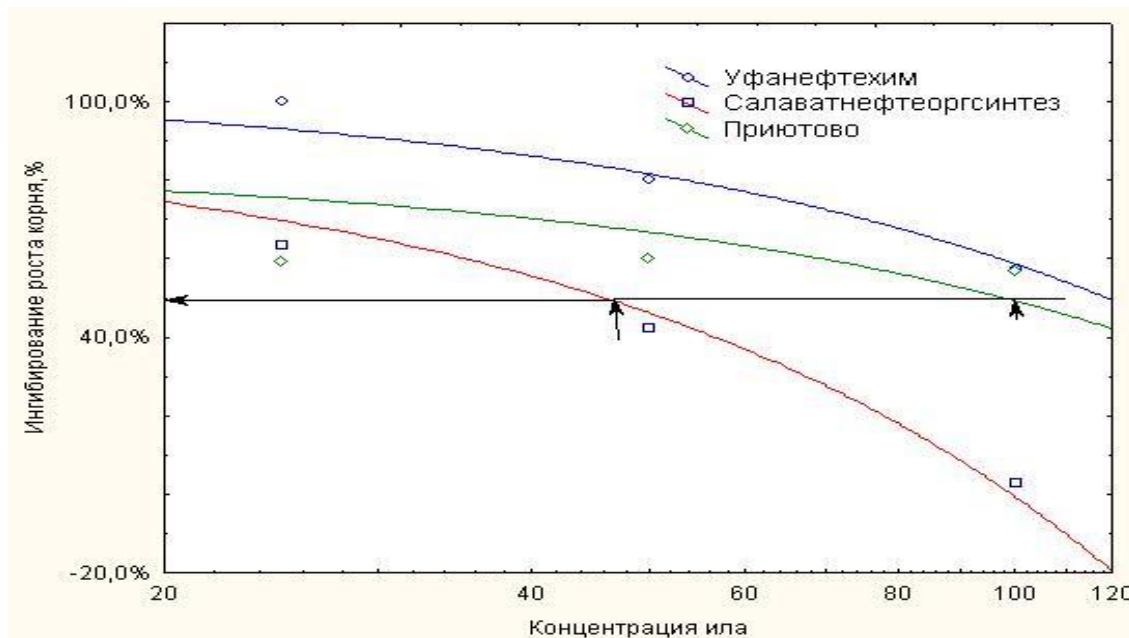
На территории ОАО «Уфанефтехим» были поставлены микрополевые опыты по изучению возможности использования ИАИ ОАО «Уфанефтехим» для рекультивации нефтезагрязненных почв. Для использования в качестве биодеструктора нефтяного загрязнения избыточный активный ил осушили, извлекли из илонакопителя и выдержали на компостной площадке 2 года. Площадь каждой опытной делянки составляла 1 м<sup>2</sup>. Опытные делянки загрязняли свежей нефтью. В течение двух недель нефть распределялась по слою почвы. Затем в почву на глубину 0-30см внесли ил. С опытных делянок регулярно проводили отбор проб почвы в соответствии с ГОСТ 17.4.3.01-83 и ГОСТ 17.4.4.02-84.

Учет численности микроорганизмов в почве с экспериментальных делянок проводили общепринятыми методами посева почвенных суспензий на агаризованные питательные среды (Методы..., 1991). В работе использовали МПА (мясо-пептонный агар), подкисленную среду Чапека и среду Ворошиловой-Диановой. Для определения содержания остаточных нефтепродуктов в почве использовали гравиметрический метод (РД 52. 24. 80-89). Бенз(а)пирен определили спектрофлуориметрическим способом (Патент № 2281480,2006). Летучие органические соединения определили хроматографическим методом. Для определения металлов использовали метод инверсионной вольтамперометрии (МУ №08-47/092). Активность почвенных ферментов каталазы, дегидрогеназы и уреазы определяли по методам, изложенным в (Хазиев, 2005). Агрехимические свойства ила и почв определяли общепринятыми методами (Методы анализа..., 1987). Фитотоксичность оценили по влиянию водного экстракта ила на прорастание семян редиса *Raphanus sativus* (ISO11269-1, ISO11269-2). Интегральную токсичность ила оценили по изменению подвижности сперматозоидов крупного рогатого скота (МУ №1.1.037-95). Статистическую обработку данных провели с помощью пакета компьютерных программ Microsoft Excel 2003.

### **Глава 3. Влияние избыточного активного ила биологической очистки нефтесодержащих сточных вод на биологическую активность почвы**

Обзор литературы показал, что ил биологической очистки сточных вод содержит значительное количество биогенных веществ для питания растений, содержит активный комплекс нефтеразрушающих микроорганизмов. В то же время в иле имеется чрезвычайно сложный состав токсикантов. Поэтому необходимо изучить ил методами биотестирования, которые охарактеризуют интегральную токсичность и обоснуют безопасность воздействия ила на растения.

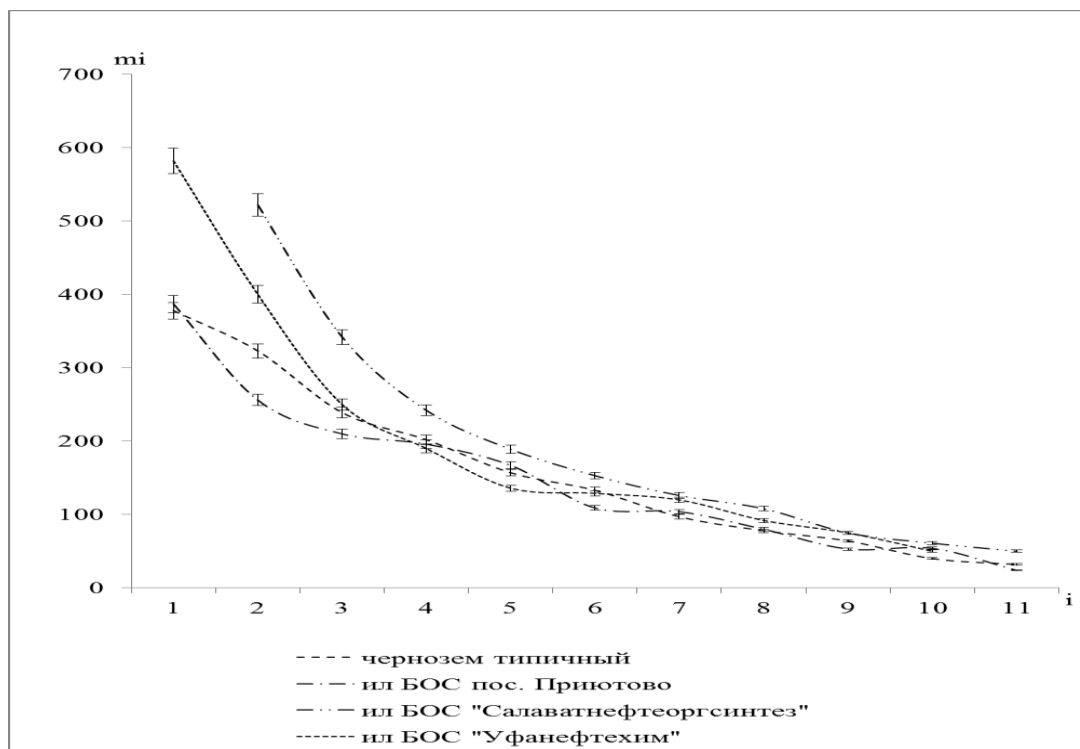
**Оценка фитотоксичности по прорастанию семян и начальному росту проростков редиса.** Эксперимент показал, что ил ОАО «Уфанефтехим» не обладает фитотоксичностью. Фитотоксичность проявила 100% вытяжка и 50% разбавление вытяжки из ила ОАО «Салаватнефтеоргсинтез». Крутизна этой кривой подтверждает его токсичность (рис. 1).



**Рисунок 1. Зависимость длины проростков редиса от концентраций исследуемых водных вытяжек ила**

Для ила ОАО «Салаватнефтеоргсинтез» безвредное разбавление пробы (БК<sub>р</sub>10), вызывающее ингибирование прорастания семян редиса не более, чем на 10%, составляет 15,4 раза. Разницу в фитотоксичности ОАО «Салаватнефтеоргсинтез» и ОАО «Уфанефтехим» можно объяснить тем, что на ОАО «Уфанефтехим» осуществляется нефтепереработка, а на ОАО «Салаватнефтеоргсинтез» помимо этого ведется органический синтез. Вследствие этого состав токсичных веществ в иле БОС, данных предприятий различается. Фитотоксичность напрямую связана с различием в составе ила этих предприятий. Это говорит о том, что при выборе способа утилизации ила биологической очистки сточных вод различных производств необходима индивидуальная оценка его токсичности как с помощью тщательного химического анализа, так и методами биотестирования (Ерохина, 2007).

**Оценка интегральной токсичности илов по подвижности сперматозоидов крупного рогатого скота.** На рисунке 2 представлены зависимости показателя подвижности сперматозоидов ( $m_i$ ) от текущего номера оценки ( $i$ ) для исследуемых образцов. Данные по изменению подвижности сперматозоидов ила пос. Приютово практически совпадает с данными по биотестированию чернозема. Влияние ила из биопрудов нефтеперерабатывающих предприятий на подвижность сперматозоидов обусловлено специфическим действием продуктов трансформации углеводородов (УВ) нефти.



**Рисунок 2. Зависимость подвижности сперматозоидов ( $m_i$ ) от текущего номера оценки ( $i$ ) (времени)**

Ход кривых биотестирования илов свидетельствует о том, что они близки кривой биотестирования чернозема. На начальном этапе биотестирования в водной вытяжке нефтехимического ила подвижность сперматозоидов даже выше, чем в черноземе типичном и иле пос. Приютово, а к концу доходит до уровня чернозема типичного.

Статистическая обработка показала, что индексы токсичности испытуемых объектов, определенные с необходимой точностью, находятся в середине допустимого интервала:  $70\% < 90,3\% - 112,9\% < 120\%$ . Это говорит о том, что изученные осадки относятся к нетоксичным веществам.

Полученные результаты по оценке токсичности илов БОС предприятий нефтехимии и нефтепереработки Башкортостана показали, что наименее безопасным является ИАИ ОАО «Уфанефтехим». Поэтому дальнейшие исследования были проведены именно с этим объектом.

**Численность микроорганизмов в почве при внесении ИАИ ОАО «Уфанефтехим».** Одной из характеристик почвенной микробиоты является численность и соотношение основных физиологических групп микроорганизмов, позволяющих косвенно судить о биохимических процессах, связанных с превращением основных биологических элементов.

Результаты микробиологического анализа показали, что патогенной микробиоты в образцах контрольной и опытной почв не выделено, но обнаружены непатогенные и условно патогенные представители семейства энтеробактерий. В контрольном образце почвы обнаружен протей. Он относится к энтеробактериям (вид – не определяли). Все эти микроорганизмы относятся к почвенным микроорганизмам, которые необходимы для разрушения загрязнителей.

Обращает на себя внимание тот факт, что при внесении ила в почву



увеличивается общая численность гетеротрофных микроорганизмов примерно на порядок по сравнению с контрольной почвой. Количество пропагул грибов в контрольной почве ниже, чем в почве с илом. Для контрольной почвы характерно и то, что хотя грибов в ней меньше, но они отличаются большим видовым разнообразием.

На второй год в почве опытного участка количество грибов резко уменьшается, а общее количество гетеротрофов практически не изменилось. В весенний период резко увеличивается численность микроорганизмов, трансформирующих органические вещества в почве, в том числе и углеводороды, т. е. резко активизируется деятельность микробиоты. В осенний период численность их по сравнению с контролем снижается, что указывает на снижение доступных для минерализации веществ (табл. 1).

**Таблица 1**

**Содержание микроорганизмов в почве при внесении ИАИ  
ОАО «Уфанефтехим»**

Дата	Характеристика участка	Гетеротрофы, $10^5$ КОЕ/г	Микромицеты, $10^3$ КОЕ/г	УОМ, $10^3$ КОЕ/г
Май I года	Контроль	0,93±0,05	0,94±0,05	0,8±0,04
	Опыт	7,1±0,36	1,95±0,1	2,9±0,13
Ноябрь I года	Контроль	0,8±0,03	0,81±0,03	0,78±0,04
	Опыт	6,90±0,35	1,80±0,09	2,8±0,12
Июль II года (сухой период)	Контроль	1,80±0,09	0,30±0,01	0,7±0,03
	Опыт	5,20±0,26	0,40±0,02	2,6±0,10
Сентябрь II года (дожди)	Контроль	0,50±0,03	0,17±0,01	0,9±0,04
	Опыт	6,40±0,32	0,44±0,02	5,0±0,2
Ноябрь II года	Контроль	0,30±0,01	0,11±0,01	0,5±0,03
	Опыт	3,60±0,18	0,27±0,01	3,0±0,15

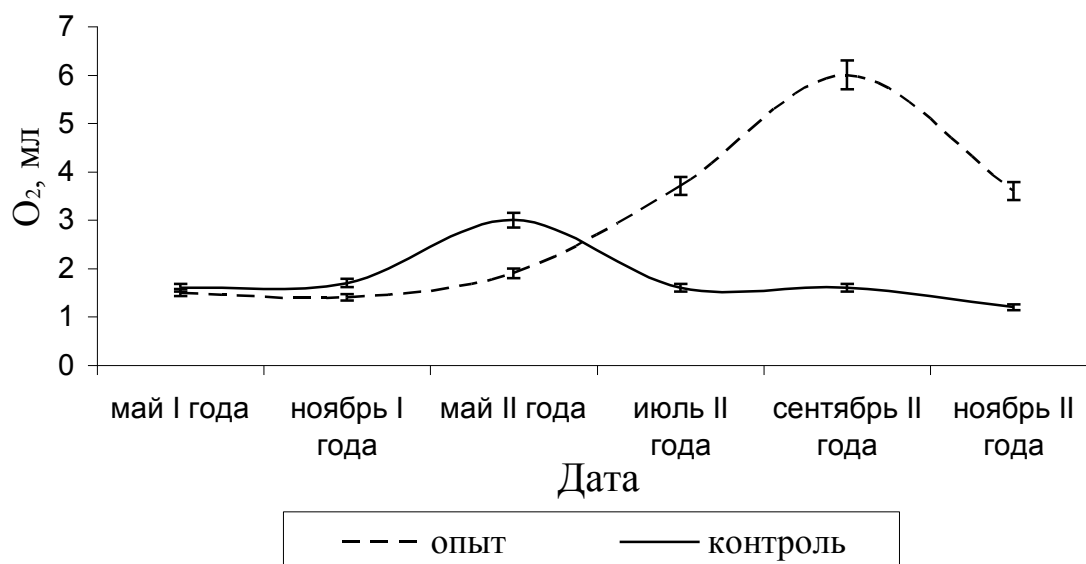
Сокращается видовое разнообразие микромицетов, что может служить диагностическим признаком высокого уровня загрязнения почвы. Выявленные нами микроорганизмы относятся к почвенным сапротрофам, участвующим в гумификации загрязнителей.

Численность углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) – основных деструкторов нефти в почве, увеличивалась в 3 – 4 раза при внесении в почву ИАИ ОАО «Уфанефтехим», очевидно, за счет присутствующих в иле микроорганизмов данной группы. Это является положительным моментом, т. к. увеличение валовой численности и активизация УОМ приводит к ускорению разложения углеводородов в почве.

**Ферментативная активность почвы при внесении ИАИ ОАО «Уфанефтехим».** Немаловажная роль в детоксикации различных поллютантов принадлежит ферментативной системе почвы и, прежде всего оксидоредуктазам.

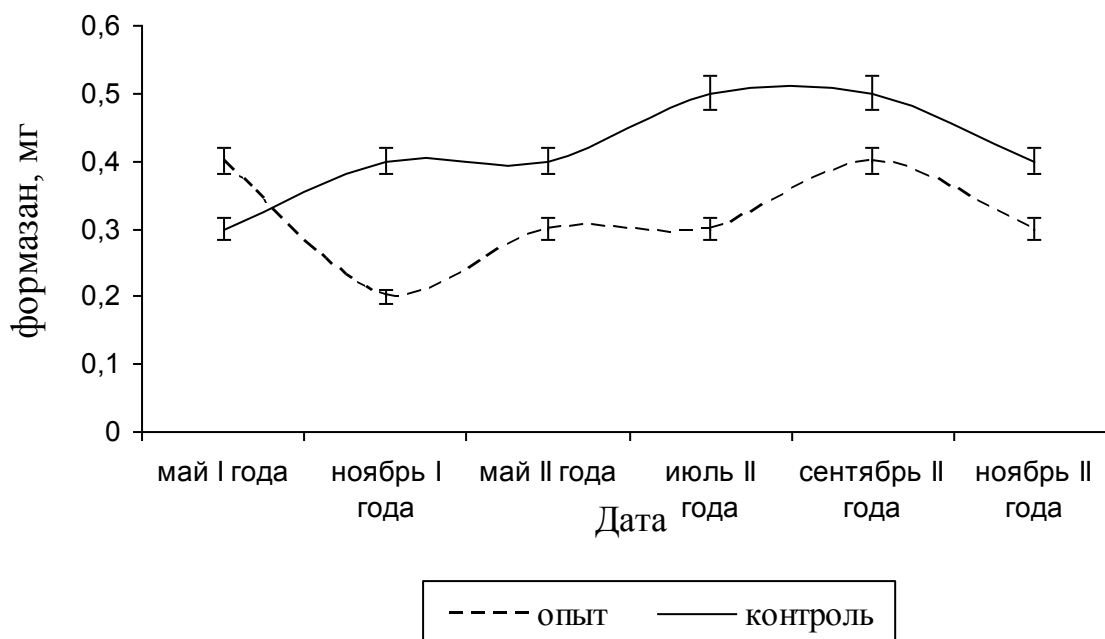
При внесении в почву ИАИ ОАО «Уфанефтехим» активность каталазы в первый год испытаний была ниже активности контроля (рис.3). Возможно, что

токсиканты, содержащиеся в иле, подавляли активность этого фермента. Повышение ее активности наблюдается весной II года, что объясняется изменением климатических условий. Летом активность каталазы в варианте с илом резко возросла, что связано с высокой активностью микроорганизмов в иле. К зиме активность каталазы как в контроле, так и в опыте снижается, в связи с понижением сезонной температуры.



**Рисунок 3. Активность каталазы в почве при внесении ИАИ ОАО «Уфанефтехим»**

При внесении ила в почву происходило снижение дегидрогеназной активности (рис. 4). Однако ко II-му году активность фермента анаэробного дегидрогенирования увеличивалась. И при этом в течение двух лет оставалась ниже фоновых значений.



**Рисунок 4. Активность дегидрогеназы в почве при внесении ИАИ ОАО «Уфанефтехим»**

Наблюдаемое нами повышение активности каталазы и дегидрогеназы может быть связано не только с изменением общей биологической активности почвы, как считают некоторые авторы, но и с появлением субстрата для данных ферментов: перекиси водорода, субстратов дегидрирования (органические кислоты, спирты, гуминовые кислоты).

**Миграция токсичных компонентов ила в растения.** Задачей этого раздела работы явилось изучение миграции токсичных компонентов ИАИ в растения при внесении его в почву. Хром, свинец и медь находятся в иле преимущественно в связанной форме и, следовательно, должны транслоцировать в растения в значительно меньшей степени. Кадмий, цинк и марганец практически полностью находятся в растворимой, легкоусвояемой форме, но содержания кадмия и цинка в иле незначительны. Для изучения миграции в растения выбраны следующие металлы: Pb, Zn, Cu, Ni, Al, Fe и мышьяк. Содержания элементов в почвах участков и в иле сравнивали с ПДК почвы по валовому содержанию и по содержанию подвижной формы.

Проведенный химический анализ показал, что кадмий в растениях отсутствует. Не выявлено корреляции между содержанием соединений свинца в иле и растениях, но показана зависимость биодоступности соединений свинца от типа почвы (чернозем типичный, дерново-подзолистая и темно-серая лесная). Накопление цинка в растениях обусловлено типом почвы, растения и содержанием в иле. Миграция меди в растения обусловлена типом почвы и видом растения. Не выявлено зависимости накопления никеля ни от вида растений, ни от типа почвы. Содержание соединений алюминия в растениях зависит только от типа почвы и вида растений и не коррелирует с внесенным илом. Степень поглощения соединений железа растениями зависит от типа почвы.

Из полученных результатов видно, что биодоступность соединений металлов для растений максимальна при выращивании на темно-серой лесной почве. Вероятно, в ней содержится мало веществ, связывающих металлы в малорастворимые комплексы. Больше всего поглощают металлы лук и свекла столовая. Полученные выводы достаточно хорошо сопоставимы с литературными данными. Результаты проведенных исследований показали, что поведение соединений металлов в системе почва - почвенный раствор - растение, т.е. их биодоступность, обусловлены химическими свойствами металлов, и, в первую очередь, степенью растворимости или устойчивостью их солей. На основании выполненного исследования можно сделать вывод, что перехода в растения соединений металлов из ила внесенного в почву, не наблюдается.

Содержание мышьяка в иле ниже ПДК почвы, поэтому переход мышьяка в растения находится на уровне контрольных опытов и не зависит от типа почвы и вида растений.

Опасность накопления нитратов в овощах связана со способностью восстанавливаться в нитриты и при взаимодействии с аминокислотами образовывать нитрозамины. Содержание нитратов в иле низкое, поэтому в растениях они не накапливаются за исключением капусты. В ней нитраты появились даже в контрольных образцах, особенно при выращивании на дерново-подзолистой и темно-серой лесной почвах (табл. 2). Видимо наблюдается поглощение нитратов из почвы или фиксация из воздуха.

Таблица 2

**Содержание нитратов в сухом веществе растений  
при внесении ИАИ в почву**

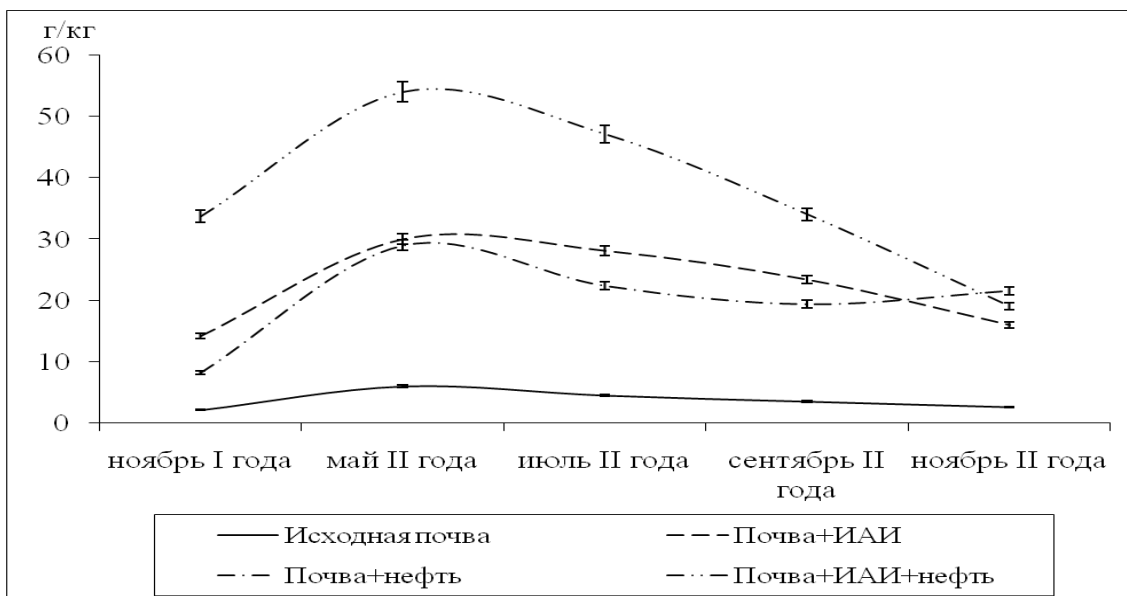
(ПДК<sub>почв</sub>=130,0 мг/кг, ПДК<sub>капусты</sub>=160,0 мг/кг, ПДК<sub>свеклы стол.</sub>=1800,0 мг/кг, ПДК<sub>картофеля</sub>=45,0 мг/кг)

Внесено в почву, мг/кг	Содержание, мг/кг				
	Капуста	Лук	Свекла сахарная	Свекла столовая	Картофель
Чернозем типичный					
0	9,0±0,1	-	22,9±0,3	38,1±0,3	133,3±0,5
0,3	95,5±0,5	4,6±0,1	7,8±0,1	139,7±0,5	43,2±0,3
0,57	-	5,4±0,1	331±1,3	367±1,4	28,9±0,3
0,87	164,6±0,5	3,8±0,1	141,0±0,9	124,2±0,5	29,2±0,3
Дерново-подзолистая					
0	320±1,3	-	110,9±0,9	-	3,3±0,1
0,27	263±1,1	3,6±0,1	9,9±0,1	138,2±0,5	7,5±0,1
0,51	717,5±3	9,7±0,1	27,9±0,3	63,3±0,5	2,2±0,1
0,78	-	5,6±0,1	160±1	47,9±0,2	3,0±0,1
Темно-серая лесная					
0	388±2	-	-	1023±5	20,1±0,1
0,29	364±1,8	-	-	645±3	2,9±0,1
0,56	263±1,5	-	-	1176±6	2,9±0,1
0,84	373±1,8	-	-	568±2	6,7±0,1

Скорость разложения бенз(а)пирена (БП) зависит от его содержания в почве, погодных условий и некоторых других обстоятельств (Бенз(а)пирен, 1983). Превышение фоновых содержаний БП выявлено в 8 пробах растений из 84. Это, скорее всего, случайный разброс результатов, тем более что нет корреляции с содержанием БП в почве опытных участков.

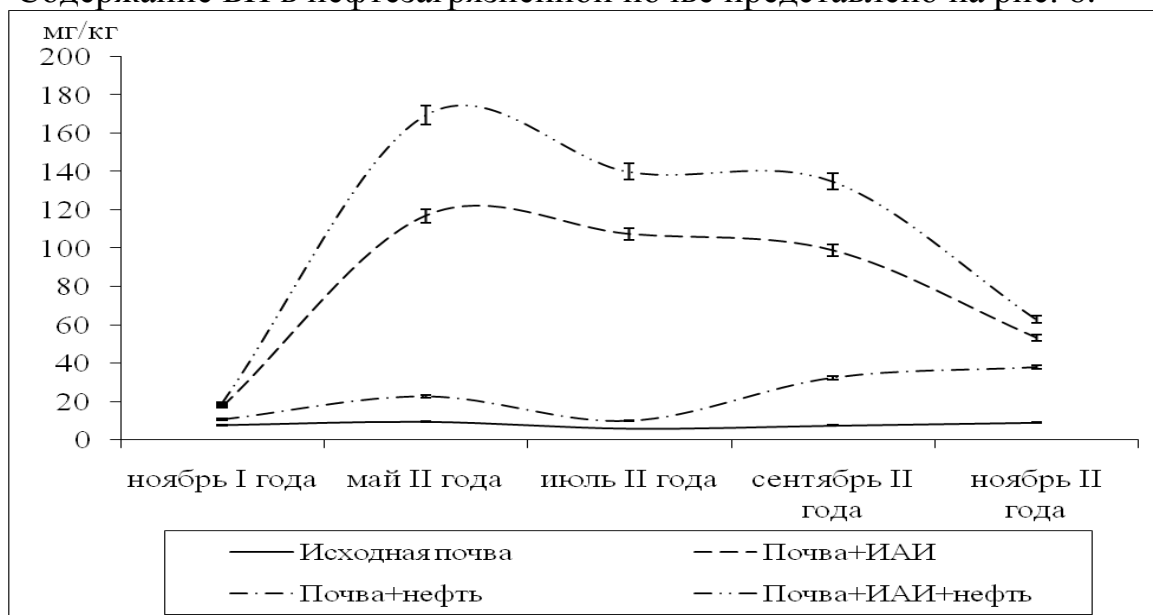
#### Глава 4. Возможность использования ИАИ БОС ОАО «Уфанефтехим» для рекультивации нефтезагрязненных почв

**Влияние внесения ИАИ на динамику содержания углеводов (УВ) и бенз(а)пирена (БП) в нефтезагрязненной почве.** Данные по разложению УВ в нефтезагрязненной почве представлены на рис. 5. Первоначально внесение ИАИ способствовало увеличению содержания УВ (C<sub>13</sub> – C<sub>35</sub>), что связано с внесением их в почву вместе с илом. К маю II года во всех вариантах опыта наблюдалось значительное повышение УВ, что связано с их накоплением в снежном покрове из выбросов предприятия. В течение лета II года, несмотря на продолжающиеся выбросы, идет снижение содержания УВ за счет активации микробиоты. К концу второго года в присутствии ила содержание УВ стало ниже варианта «почва-нефть». Это свидетельствует об их разрушении.



**Рисунок 5. Изменение содержания углеводов в нефтезагрязненной почве**

Содержание БП в нефтезагрязненной почве представлено на рис. 6.



**Рисунок 6. Изменение содержания бенз(а)пирена в нефтезагрязненной почве**

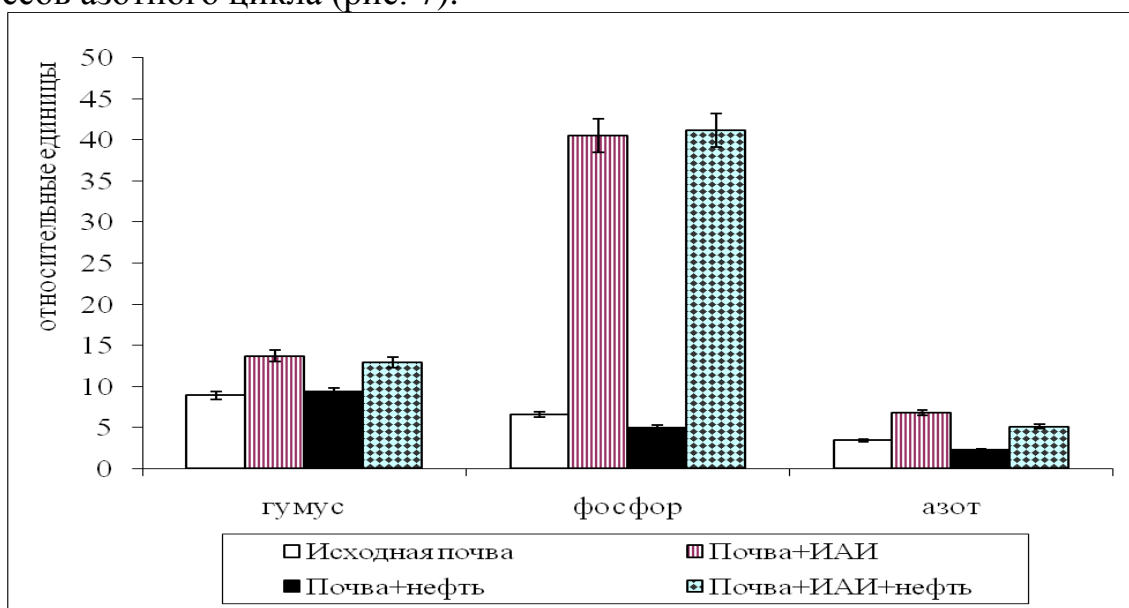
Ил биологической очистки нефтесодержащих сточных вод содержит большое количество БП. Исходная почва так же загрязнена БП за счет выбросов предприятия. К весне II года наблюдается значительное увеличение БП в вариантах опыта с илом, что, вероятно, связано с активным биосинтезом БП в нем. В середине лета II года наблюдается разрушение БП связанное с уменьшением количества атмосферных осадков и интенсивным УФ облучением, что подтверждается литературными данными (Бенз(а)пирен, 1986).

Таким образом, внесение ила способствует превращению УВ нефти в длинноцепочечные УВ. Содержание БП остается на высоком уровне, поэтому использование ила рекомендуется только в промзоне.

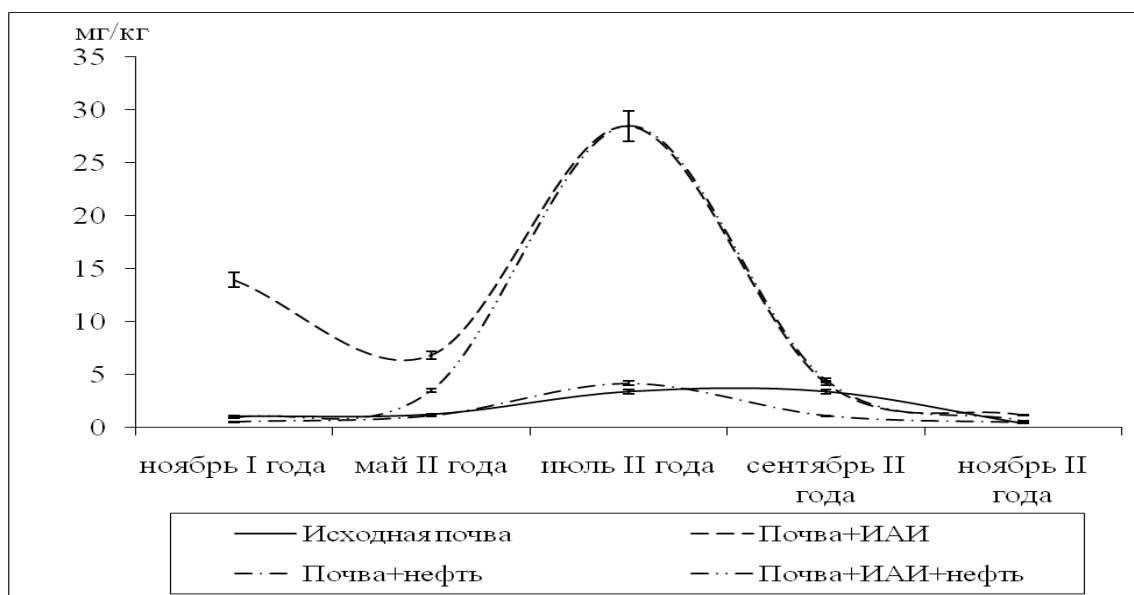
В фоновой почве содержится 20мг/кг АПАВ. Загрязнение почвы нефтью не повлияло на их содержание, поэтому динамику изменений содержания далее не исследовали.

**Влияние внесения ИАИ на содержание веществ для питания растений в нефтезагрязненной почве.** При внесении ила в почву, загрязненную нефтью содержание гумуса увеличилось. Через год содержание гумуса в почве с илом сравнялось с содержанием гумуса в варианте почва + ил + нефть, что, вероятно, связано с частичной гумификацией компонентов нефти (рис. 7).

Загрязнение почвы нефтью практически не влияет на содержание подвижного фосфора в почве, тогда как внесение ила сильно его повышает, что объясняется привнесением этих соединений в почву вместе с илом. И через год сохраняется та же картина. Содержание общего азота в почве при загрязнении нефтью снижается, очевидно, за счет расширения соотношения C:N в почве. Однако в иле содержится значительное количество азотистых соединений и в нем активно работают микроорганизмы, участвующие в круговороте азота. Его внесение в загрязненную почву способствует активизации микробиологических процессов азотного цикла (рис. 7).



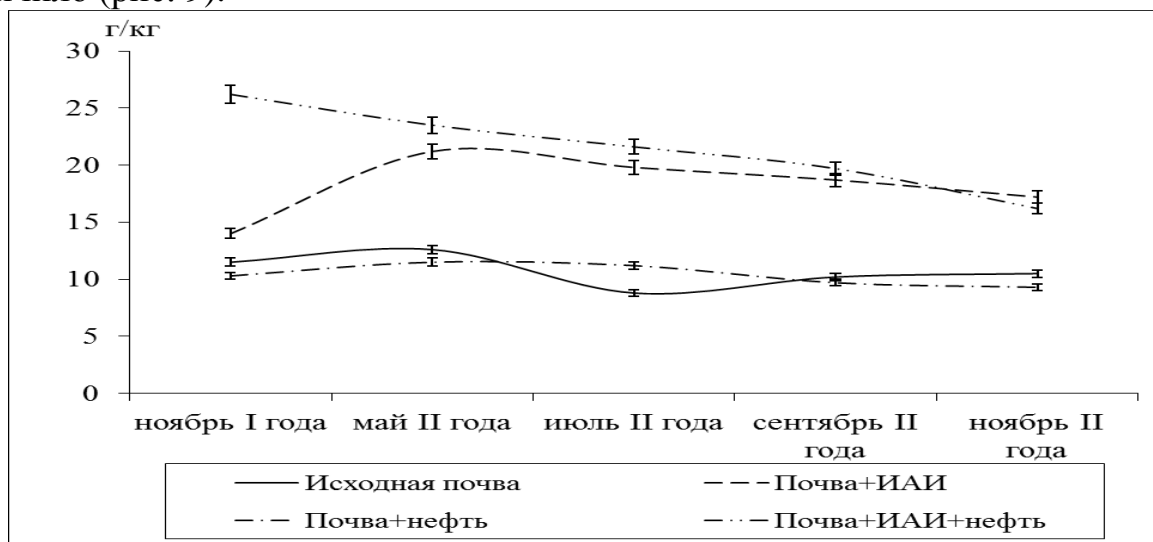
**Рисунок 7. Относительное содержание веществ для питания растений в нефтезагрязненной почве (опыт/контроль)**



**Рисунок 8. Содержание нитратов в нефтезагрязненной почве**

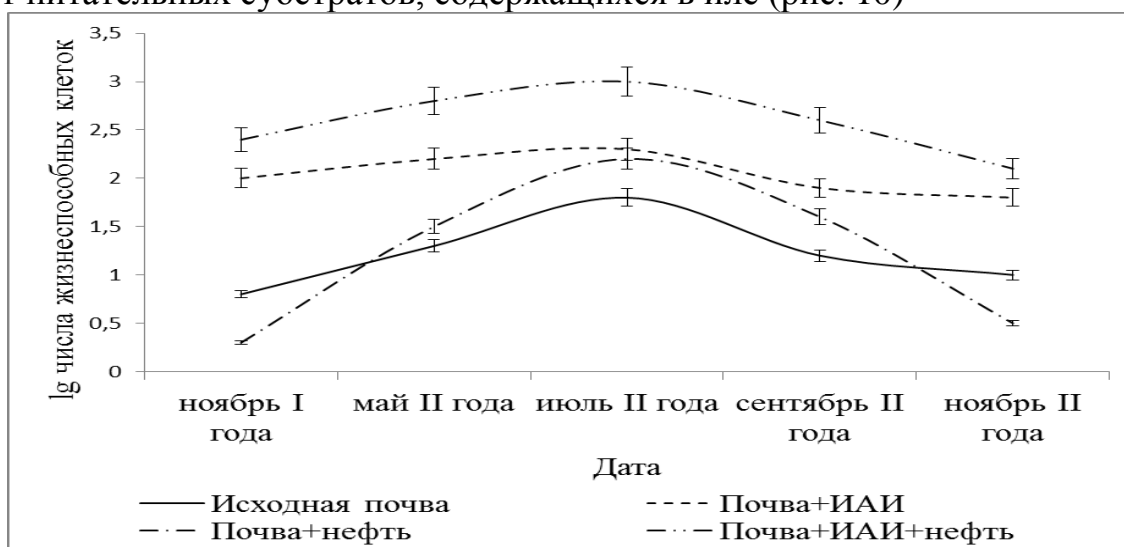
Содержание нитратов в почве увеличивается после внесения ила. Через год содержание нитратов во всех вариантах опыта сравнялось (рис. 8). В конце второго года содержание в нефтезагрязненной почве веществ для питания растений соответствует их содержанию в почве с илом.

Загрязнение чернозема нефтью не повлияло на содержание в почве минеральных веществ (соли металлов), тогда как внесение ила существенно их увеличило (рис. 9).



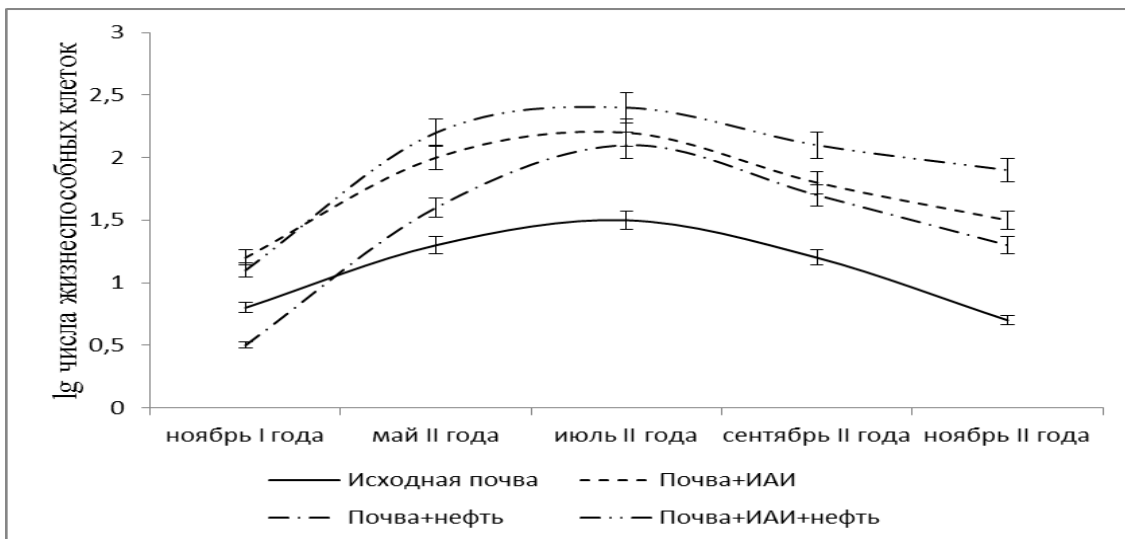
**Рисунок 9. Содержание минеральных веществ в нефтезагрязненной почве**

**Влияние внесения ИАИ на численность микроорганизмов в нефтезагрязненной почве.** Внесение ИАИ в нефтезагрязненную почву оказало неоднозначное влияние на численность различных групп микроорганизмов. При загрязнении почвы нефтью общая численность гетеротрофов первоначально снизилась, однако на следующий год эта величина превосходила значения в фоновой почве. На второй год численность этой группы микроорганизмов снизилась и не превосходила значения в фоновой почве. Внесение ИАИ значительно повышало общую численность гетеротрофов как за счет привнесения микроорганизмов самого ила, так и активизации аборигенной микробиоты почвы за счет питательных субстратов, содержащихся в иле (рис. 10)



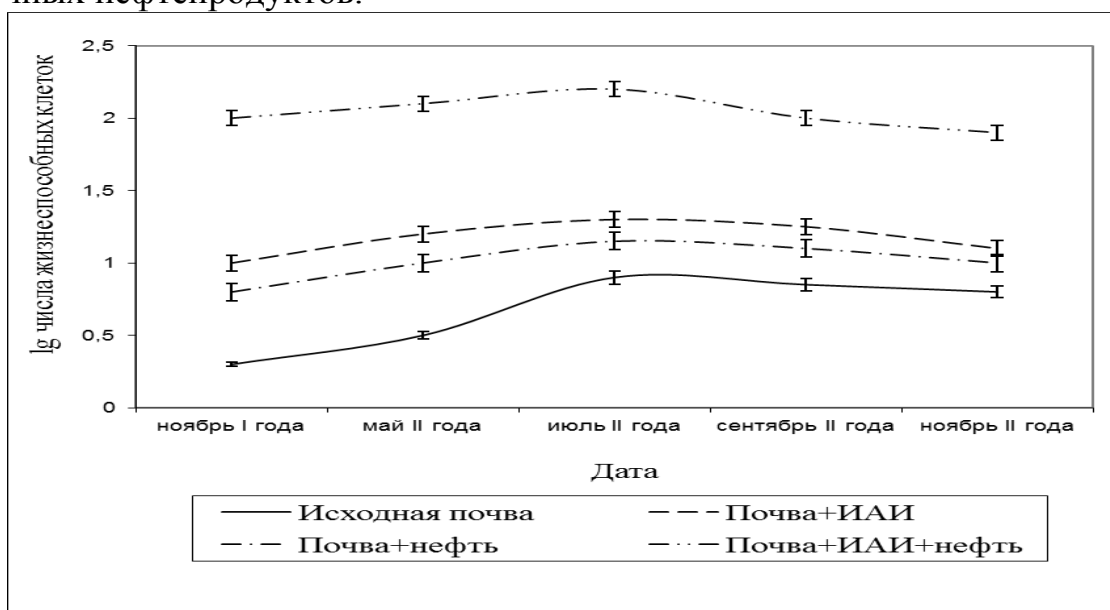
**Рисунок 10. Общая численность гетеротрофов в нефтезагрязненной почве при внесении ИАИ**

Численность микроскопических грибов – основных деструкторов высокомолекулярных полимеров – увеличивалась при загрязнении почвы нефтью. Внесение ИАИ способствовало еще большему увеличению численности этой группы микроорганизмов (рис. 11). Это явление можно рассматривать двояко. С одной стороны, многие микромицеты являются деструкторами углеводов, что способствует ускорению разложения остаточных нефтепродуктов в почве. Однако среди микромицетов, особенно в условиях нефтяного загрязнения, много фитопатогенных видов, что значительно ухудшает фитосанитарное состояние почвы.



**Рисунок 11. Численность микромицетов в нефтезагрязненной почве при внесении ИАИ**

Численность УОМ – основных деструкторов углеводов – в почве возрастала как при згрязнении нефтью, так и при внесении ИАИ. Причем, эти значения сохранялись в течение всего эксперимента (рис. 12). Сочетанное воздействие нефти и ИАИ проявлялось в увеличении на порядок численности этой группы микроорганизмов. Это явление способствует ускорению разложения остаточных нефтепродуктов.



**Рисунок 12. Численность УОМ в нефтезагрязненной почве при внесении ИАИ**

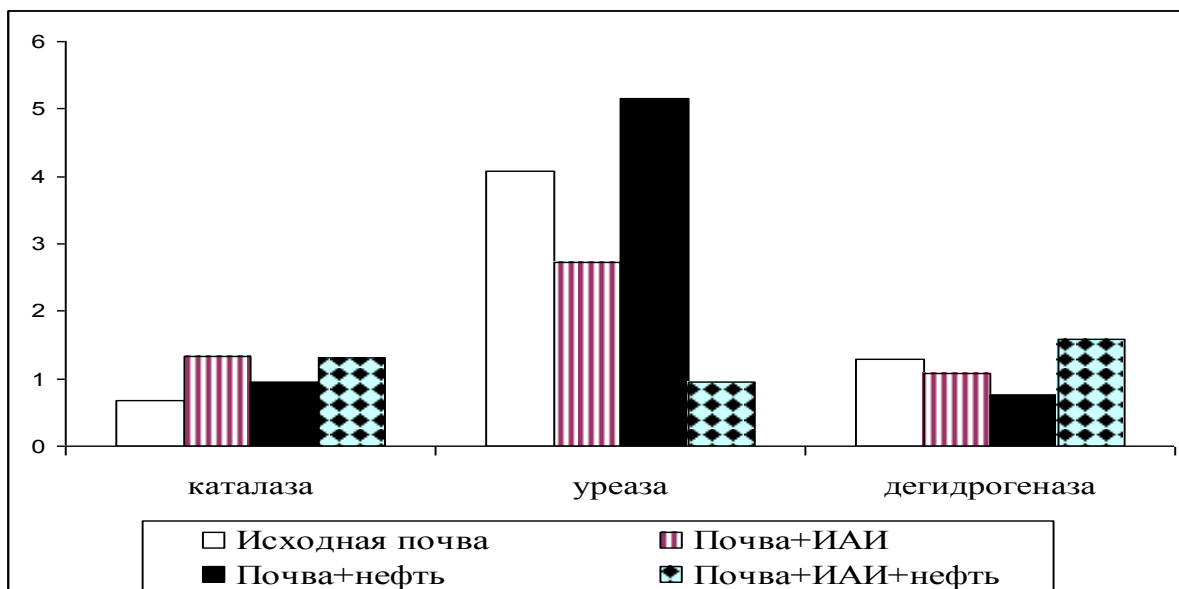


**Влияние внесения ила в нефтезагрязненную почву на ферментативную активность.** В основе синтеза гумусовых компонентов почвы лежат окислительно-восстановительные процессы, в которых в качестве катализаторов участвуют ферменты, выделяемые микроорганизмами. Среди них большую роль играет каталаза.

Первоначально загрязнение нефтью почвы резко угнетает активность каталазы, которая с течением времени возрастает, превышая значения в образцах контрольных участков. Внесение ИАИ в почву резко усиливает активность каталазы в течение всего периода рекультивации. В присутствии ИАИ и нефти повышается активность каталазы, а к концу эксперимента ее активность совпадает с активностью каталазы в почве, удобренной илом и существенно выше, чем в контрольной почве.

Применение ИАИ, как рекультивирующего фактора, оказало благоприятное воздействие и на активность другой оксидоредуктазы – дегидрогеназы. При загрязнении почвы нефтью активность этого фермента снижалась. Первоначально внесение ИАИ в нефтезагрязненную почву не оказывало благоприятного действия на процессы анаэробного дегидрирования. Однако через год после постановки эксперимента активность этого фермента в нефтезагрязненной почве при внесении ИАИ превышала показатели фоновой почвы.

Катализируя реакции гидролитического распада высокомолекулярных органических соединений, гидролазы играют важную роль в обогащении почвы подвижными и доступными растениям и микроорганизмам питательными веществами. По данным ряда авторов (Непомилуев, Козырев, 1970; Хабиров, 1993) активность уреазы связана прямой коррелятивной связью с содержанием органического углерода в почве и увеличением окислительно-восстановительного потенциала в сторону преобладания восстановительных процессов. Наличие нефтяных углеводородов в почве повысило активность уреазы, тогда как внесение ила ее снизило. Совместное присутствие ила и нефти в почве резко повысило активность уреазы, а затем стабилизировало на низком уровне. Вероятно, компоненты ила способствуют гидролизу органических соединений азота. Относительная активности ферментов в конце эксперимента представлены на рисунке 13. Активность каталазы повышена в присутствии ила, а уреазы – снижена. Эти показатели можно использовать для контроля процесса рекультивации.



**Рисунок 13. Относительная активность ферментов в нефтезагрязненной почве в конце второго года рекультивации (опыт/контроль)**

В полевых опытах к концу второго года наблюдалось озеленение нефтезагрязненной почвы аборигенной растительностью.

**Предлагаемая схема рекультивации нефтезагрязненных почв.** Как показали проведенные исследования внесение ИАИ в почву, загрязненную нефтью, способствует снижению содержания остаточных углеводородов, нормализации агрохимических, микробиологических и биохимических показателей.

В предлагаемом нами способе ИАИ предварительно подготавливают к использованию. Для этого осадок ИАИ необходимо подсушить и уплотнить естественным путем до воздушно-сухого состояния в летний период в илонакопителях, затем извлечь и разместить на компостной площадке, где выдержать в течение 1-2 лет до исчезновения патогенных микроорганизмов (СанПиН 2.1.7.573-96). Определить в подготовленном ИАИ содержание биогенных элементов для питания растений и приоритетных токсикантов. Провести микробиологический анализ на содержание микроорганизмов. Затем ИАИ разместить на нефтезагрязненной почве в количестве 300-400 т/га в пересчете на сухое вещество. Для улучшения аэрации почвы и перемешивании с нефтезагрязненным слоем, провести рыхление со снижением гравиметрической плотности на 10-30%. В течение теплого времени года (весна, лето, осень) контролировать процесс разрушения нефтепродуктов и приоритетных токсикантов ИАИ, процесс почвообразования и озеленения, анализируя пробы с рекультивируемого земельного участка. Таким образом, в течение 2,5 - 3 лет возможно освободить илонакопители и рекультивировать нефтезагрязненную почву с содержанием нефти до 25% с одновременной утилизацией ИАИ.

## ВЫВОДЫ

1. Тестирование водной вытяжки илов показало, что ИАИ БОС ОАО «Уфанефтехим» и коммунальных очистных сооружений п. Приютово не обладают фитотоксичностью по отношению к тест-растениям. Водная вытяжка из ила ОАО «Салаватнефтеоргсинтез» проявила фитотоксичность на 72%, а ее 50%-ное разбавление на 57%.

Оценка интегральной токсичности ИАИ на клеточном уровне показала, что илы очистных сооружений ОАО «Уфанефтехим», ОАО «Салаватнефтеоргсинтез» и коммунальных БОС п. Приютово не снижают подвижности сперматозоидов крупного рогатого скота.

2. Показано, что внесение избыточного активного ила ОАО «Уфанефтехим» в почву активизирует микробиологические и биохимические процессы в ней, что проявляется в увеличении численности микроорганизмов и повышении активности дегидрогеназы и каталазы.

3. Исследована миграция из ила БОС ОАО «Уфанефтехим» металлов, мышьяка, нитратов и бенз(а)пирена в растения (кукуруза, лук, свекла столовая, капуста, картофель). Показано, что биодоступность металлов для растений обусловлена их химическими свойствами, видом растения и типом почвы (выше на серой лесной почве). При введении в почву 7-ми кратного избытка ила по сравнению с рекомендациями заметного перехода в растения металлов не наблюдается. Наибольшее поглощение металлов характерно для растений лука и столовой свеклы. При внесении ила в почву содержание бенз(а)пирена в растениях соответствовало фоновому уровню.

4. При внесении ила ОАО «Уфанефтехим» в нефтезагрязненную почву происходит снижение содержания УВ, нормализуются агрохимические, ферментативные и микробиологические показатели почвы. На основании выполненных исследований предложен возможный способ биоремедиации нефтезагрязненных почв в промзоне предприятия.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи в журналах, рекомендованных ВАК, патент

1. Трубникова Л. И., Трубникова Н. И. Интегральная токсичность водной вытяжки ила биоочистки сточных вод предприятий нефтехимии // Гигиена и санитария. 2002. №4. С. 51 – 53.

2. Ерохина Н. И., Трубникова Л. И., Киреева Н. А. Транслокация в растения вредных веществ активного ила биологической очистки нефтесодержащих сточных вод // Агрехимия. 2008. №1. С. 68 – 75.

3. Киреева Н. А., Новоселова Е. И., Ерохина Н. И., Григориади А. С. Накопление бенз(а)пирена в системе «почва – растение» при загрязнении нефтью и внесении активного ила // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. №6 (100). С. 579 – 581.

4. Григориади А. С., Якупова А. Б., Амирова А. Р., Ерохина Н. И. Микологическая оценка почвы, загрязненной отходами нефтеперерабатывающей

промышленности // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2011. Т. 13. №5. С. 155 – 157.

5. Патент РФ на изобретение № 2281480. Способ экстракции полиароматических углеводов из объектов с органической и органоминеральной матрицей / Трубникова Л.И., **Трубникова Н.И.**, Бакиров А.Б. Оpubл. 10.11.2006г. Бюл. №22.

#### Статьи и материалы в других изданиях

6. Трубникова Л. И., **Трубникова Н. И.**, Резник Л. Б., Большаков И. А., Власова И. Л. Миграция тяжелых металлов в растения из почвы, удобренной илом биоочистки нефтесодержащих сточных вод // Промышленная экология. Проблемы и перспективы. Матер. Всеросс. научн.-практ. конф. Уфа. 2001. С. 68-70.

7. Трубникова Л.И., Хуснарязанова Р.Ф., **Трубникова Н.И.** Динамика микроорганизмов в почве при внесении в неё ила биоочистки нефтесодержащих сточных вод // Мониторинг, аудит и информационное обеспечение в системе медико-экологической безопасности: Тезисы докл. XI Междун. симпозиума. Испания, Коста Даурада, 27 апреля - 04 мая 2002г. М.: 2002. С.153-156.

8. Трубникова Л. И., **Трубникова Н. И.**, Секретарев В. И., Сатылбаева С. С. Биотестирование избыточного активного ила предприятий нефтехимии // Наука-образование-производство в решении экологических проблем: Матер. Междун. научн.-техн. конф. Уфа. 2002. С. 109-111.

9. Трубникова Л.И., **Трубникова Н.И.**, Власова И. Л., Резник Л. Б. Трансформация АПАВ в почве // Нефтепереработка и нефтехимия – 2002. Матер. Всеросс. научн.-практ. конф. Уфа. 2002 С. 216-217.

10. Трубникова Л.И., **Трубникова Н.И.** Влияние ила биологической очистки нефтесодержащих сточных вод на формирование почвенного слоя // Экология. Химия. Отходы: матер. научн.-практ. конф. Уфа. 2003. С. 131-135.

11. Трубникова Л.И., **Трубникова Н.И.** Сравнительное изучение двух способов определения класса опасности отхода // Экологические проблемы промышленных регионов: матер. региональной конф. Екатеринбург. 2003. С. 41- 42.

12. **Трубникова Н. И.** Детоксикация активного ила нефтехимических производств в почве // Ломоносов – 2004: тезисы докл. XI Междун. конф. студентов и аспирантов по фундаментальным наукам. Секция почвоведение. М.: МГУ. 2004. С. 160.

13. Трубникова Л.И., **Трубникова Н.И.** Полиароматические углеводороды в окружающей среде // Современные проблемы медицины труда: матер. Всеросс. Научн.-практ. конф. Уфа. 2005. С. 322 – 323.

14. **Ерохина Н. И.** Металлы в системе ил – почва – растения // Биология – наука XXI века: тезисы 10-ой Пушкинской школы-конф. молодых ученых. Пушкино. 2006. С. 227 – 228.

15. **Ерохина Н. И.**, Киреева Н. А., Трубникова Л. И. Оценка токсичности избыточного активного ила биологической очистки нефтесодержащих сточных вод // Экология и биология почв. Матер. Междун. научн. конф. Р/Д: Росиздат. 2007. С. 93 – 97.

16. Киреева Н. А., Григориади А. С., **Ерохина Н. И.**, Новоселова Е. И. Оценка эффективности биоремедиации нефтезагрязненных почв по показателям

биологической активности // Матер. V Всеросс. съезда почвоведов им. В. В. Докучаева Р/Д: Росиздат. 2008. С.109.

17. Киреева Н. А., Григориади А. С., Онегова Т. С., **Ерохина Н. И.**, Новоселова Е. И. Изучение возможности использования активного ила для рекультивации нефтезагрязненных почв // Экологические проблемы природных и урбанизированных территорий. Матер II Всеросс. научн. конф. Астрахань: Астраханский университет. 2008. С. 100 – 102.

18. **Ерохина Н. И.**, Киреева Н. А., Трубникова Л. И., Резник Л. Б. Использование ила очистных сооружений предприятий нефтепереработки и нефтехимии для рекультивации нарушенных земель в промзоне // Урбозкосистемы: проблемы и перспективы развития. Матер. III Междун. научн.-практ. конф. Ишим. 2008. С. 24 – 26.

19. Киреева Н. А., **Ерохина Н. И.**, Новоселова Е. И., Григориади А. С. Изучение возможности утилизации промышленных отходов для восстановления урбанизированных почв // Экологические проблемы промышленных городов. Сб. научн. тр. Саратов. 2009. ч. I. С. 32 – 34.

20. Киреева Н. А., Григориади А. С., Климина И. П., **Ерохина Н. И.** Утилизация отходов производства для восстановления урбанизированных территорий // Экологические проблемы природных и урбанизированных территорий. Сб. статей III Всеросс. научн.-практ. конф. Астрахань. 2009. С. 160 – 162.

21. Трубникова Л.И., **Ерохина Н. И.**, Жукова О.Ю. Биотестирование осадков сточных вод // Мавлютовские чтения: Материалы Всероссийской молодежной научной конференции. Уфа. 2009. Т.5. С.114-116.

22. Трубникова Л.И., **Ерохина Н. И.**, Шарафиева Г. А. Исследование состава активного ила для его утилизации // Мавлютовские чтения: Материалы Всероссийской молодежной научной конференции. Уфа. 2009. Т.5. С.106-108.

23. Киреева Н. А., Григориади А. С., **Ерохина Н. И.**, Гареева А. Р., Водопьянов В. В. Изучение влияния рекультивации с помощью активного ила на состояние нефтезагрязненной почвы // Актуальные проблемы изучения биоты Южного Урала и сопредельных территорий. Матер. Всеросс. научн.-практ. конф. Орск. 2010. С. 27 – 30.

24. Киреева Н. А., Григориади А. С., **Ерохина Н. И.** Мониторинг растений-фиторемедиантов, произрастающих на нефтезагрязненной почве // Биологический мониторинг природно-техногенных систем. Матер. Междун. конф. Киров. 2011. Ч. 1. С. 145 – 148.

25. Григориади А. С., **Ерохина Н. И.**, Киреева Н. А. Использование отходов предприятий для восстановления нарушенных почвенных экосистем // Наука, образование, производство в решении экологических проблем (Экология – 2011). Сб. научн. статей Междун. научн.-техн. конф. Уфа, 2011. Том II. С. 37 – 42.