

## ОЧИЩЕННЯ ПІЩАНИХ ҐРУНТІВ ВІД НАФТОЗАБРУДНЕНЬ ЗАСТОСУВАННЯМ БІОСОРБЦІЙНИХ КОМПЛЕКСІВ

Хохлов А.В., Хохлова Л.Й.

Інститут сорбції та проблем ендоекології  
Національної академії наук України  
вул. Генерала Наумова, 13, 03164, м. Київ  
[ispe@ispe.kiev.ua](mailto:ispe@ispe.kiev.ua), [techsorb@ukr.net](mailto:techsorb@ukr.net)

Очищення ґрунтів, забруднених нафтою і нафтопродуктами, має особливості, тому що через велику адсорбувальну здатність ґрунт накопичує забруднювач. Одним із найбільш проблемних є метод очищення піщаних ґрунтів із бідним біоценозом від застарілих нафтозабруднень. Перспективним напрямом в очищенні ґрунтів від забруднення нафтою є мікробіологічні технології. Застосування спеціальних мікробних препаратів дає змогу пришвидшити деструкцію нафти. Наявні препарати мають свої особливості застосування й хиби. Вони втрачають деструктивну активність із часом і малоєфективні під час ліквідації застарілих нафтозабруднень із великою концентрацією. Об'єктом досліджень є створений біосорбційний комплексний препарат для очищення забруднених нафтою піщаних ґрунтів. Біосорбційний комплекс (біосорбент) на основі екологічного матричного сорбенту світлого кольору й іммобілізованих на його поверхні активних мікроорганізмів-деструкторів нафти природного походження дає змогу очищати світлі піщані ґрунти від застарілих концентрованих забруднень. Введення до складу біосорбенту аеробних і анаеробних мікроорганізмів дає змогу здійснювати біодеструкцію нафти як на поверхні в аеробних умовах, так і в глибині. Іммобілізовані на сорбційному матеріалі мікроорганізми володіють великим потенціалом деструктивної дії. Під час іммобілізації зберігається життєздатність клітин мікроорганізмів і значно підвищується ефект їх застосування. Встановлено оптимальні параметри отримання олеофільної сорбційної матриці з різних типів сировини та отримання мікробної біомаси з високою деструктивною активністю до вуглеводнів нафти. Вивчено деструктивні характеристики отриманих біоактивних сорбентів світлого кольору на основі носіїв різного типу. Як носії використано рослинні матеріали та мінеральні сорбенти – глауконіт, смектоніт. Проведеними дослідженнями показано зміну концентрації нафтового забруднення піщаного ґрунту від 30–40 % до 1–5 % нафти в процесі біодеструкції через 140 діб. Проведені випробування біосорбенту світлого кольору на промислових умовах нафтобази із застарілим нафтозабрудненням показали ефективність очищення до 90 %.

*Ключові слова:* піщані ґрунти, нафта, мікроорганізми-деструктори, глауконіт, смектоніт, сорбція, деструкція.

### **Purification of sandy soils from oil with the use of biosorption complexes. Khokhlov A., Khokhlova L.**

Cleaning of soils contaminated with oil and oil products has features. Due to the high adsorption capacity of the soil accumulates contaminants. One of the most problematic is the method of cleaning sandy soils with poor biocenosis from obsolete oil pollution. A promising area in the purification of soils from oil pollution is microbiological technology. The use of special microbial drugs can accelerate the destruction of oil. Existing drugs have their own peculiarities and disadvantages. They lose destructive activity over time and are ineffective in eliminating obsolete oil pollution with a high concentration. The object of research is a biosorption complex preparation for cleaning oil-contaminated sandy soils. The biosorption complex (biosorbent) on the basis of ecological matrix sorbent of light color and the active microorganisms-destroyers of oil of natural origin immobilized on its surface allows to clear light sandy soils of outdated concentrated pollution. The object of the study is a biosorption complex preparation for cleaning oil-contaminated sandy soils. Biosorption complex (biosorbent) on the basis of ecological matrix sorbent of light color and active microorganisms-destroyers of oil of natural origin, immobilized on its surface, allows to clear light sandy soils from outdated concentrated pollution. The introduction of aerobic and anaerobic microorganisms into the biosorbent allows the biodegradation of oil both on the surface under aerobic conditions and at depth. Microorganisms immobilized on the sorption material have a great potential for destructive action. Immobilization preserves the viability of cells of microorganisms and significantly increases the effect of their use. The optimal parameters for obtaining oleophilic sorption matrix from different types of raw materials and obtaining microbial biomass with high destructive activity to petroleum hydrocarbons have been established. The destructive characteristics of the obtained light-colored bioactive sorbents based on carriers of different types have been studied. Plant materials and mineral sorbents – glauconite, smectonite – were used as carriers. Studies have shown a change in the concentration of oil pollution of sandy soil from 30–40 % to 1–5 % of oil in the process of biodegradation after 140 days. Tests of light biosorbent in industrial conditions of the oil depot with obsolete oil pollution of the soil showed a cleaning efficiency of up to 90 %.

*Key words:* sandy soils, oil, microorganisms-destroyers, glauconite, smectonite, sorption, destruction.

**Постановка проблеми.** На сучасному етапі історичну перспективу людства визначає екологічний фактор. Нафта є складним і стійким забруднювачем. Вуглеводні нафти доступні для засвоєння тільки спеціалізованим бактеріям. Така вибірковість щодо нафти лягла в основу бактеріальних методів нейтралізації нафтового забруднення. Бактерії – це високоактивні мікроорганізми, які містять ферменти, тобто

біологічні каталізатори, що можуть діяти на велику кількість субстрату за одиницю часу. Біосорбенти, побудовані на основі адсорбційного матеріалу з іммобілізованими нафтоокислюючими мікроорганізмами, здатні локалізувати та руйнувати нафтопродукти. Руйнування нафти може здійснюватися до завершальних стадій, коли залишаються тільки продукти розпаду нафти, які інертні (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, асфаль-

тени) до довкілля. Залишкова частина біосорбенту є початковою основою сорбційного носія.

**Актуальність дослідження.** Для розв'язання цієї проблеми доцільним є застосування сорбенту, що забезпечує швидку локалізацію забруднення, а мікроорганізми-деструктори, іммобілізовані на його поверхні, здатні здійснювати подальшу ремедіацію забрудненої території. Розроблення принципів спільного використання сорбентів і мікроорганізмів-деструкторів для очищення ґрунту, забрудненого ксенобіотиками, встановлення параметрів одержання біосорбційного комплексу та його застосування в біотехнології сприятиме ефективному та якісному відновленню забруднених ґрунтів. Окрім того, відновлення забруднених ґрунтів біологічними методами вимагає набагато менше витрат для свого застосування, ніж відомі небіологічні технології. Отже, проведення досліджень із розроблення й застосування на практиці біосорбційного комплексу для очищення піщаного ґрунту від застарілих нафтозабруднень є надзвичайно важливо.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Є різноманітні технології та методи очищення ґрунтів від забруднення нафтою. У роботі [1] представлено результати досліджень з очищення забруднених однорідних і різнорідних ґрунтів шляхом промивання їх водою. Ефективність та актуальність такої технології викликають сумніви, хоча це твердження може бути суперечливим. Питання деструкції нафтозабруднення ґрунтів становлять значну частину зарубіжних і вітчизняних досліджень у галузі ґрунтової мікробіології. Технології очищення нафтозабруднених ґрунтів, як зазначається в роботах авторів [2; 3], передбачають активацію процесів самоочищення завдяки індукуванню мікроорганізмів, що руйнують забруднення. Численні дослідження визначили технологічні особливості виробництва та методи використання біоактивних матеріалів для очищення ґрунту від забруднення нафтою для різних об'єктів навколишнього середовища. Як показано [4], очищення ґрунтів, забруднених нафтою та нафтопродуктами, має особливості. Внесення мікроорганізмів доцільно в тому разі, коли активність природного біоценозу невисока, а окислення нафти відбувається вкрай повільно. Через велику адсорбувальну поверхню ґрунту в ньому накопичується забруднювач. Сорбційна здатність залежить від властивостей ґрунту, насамперед від капілярних сил, які визначаються гранулометричним складом ґрунту та вмістом вологи. Насичені водою ґрунти зв'язують тільки залишкову кількість нафти у вигляді рідкої фази. Природний біокомплекс (природний біоценоз), що існує в ґрунті, активний там, де більше бактеріальних клітин утримується на ґрунтовій поверхні. Автори [5; 6] показують, що введення в ґрунт адаптованих мікроорганізмів із високою руйнівною активністю пришвидшує розкладання нафти. Однак під час використання мікробних препаратів, як зазна-

чають автори [7], існує суперечність у результатах. Іммобілізовані на різних матеріалах, мікроорганізми мають більший потенціал руйнівної дії. Тому створення й дослідження біоактивних сорбційних комплексів, що сорбують рухливий забруднювач (нафту) та розкладають нафту в локалізованому стані, є актуальним, особливо для конкретних піщаних ґрунтів. На основі аналітичного огляду наукової літератури обґрунтовано необхідність і перспективність проведення досліджень зі створення біосорбційних комплексів, у яких мікроорганізми-деструктори іммобілізовані на носіях, що сорбційно активні до нафти та мікроорганізмів. Іммобілізація підвищує життєздатність клітин мікроорганізму. Вибір оптимальних адсорбентів для іммобілізації мікроорганізмів може значно збільшити ефект їх використання. Переваги використання іммобілізованих мікроорганізмів-деструкторів наведено в статтях [8; 9]. Практика показує, що очищення піщаних ґрунтів становить особливу складність, і вказує на необхідність досліджень на місцях. Розроблення технології очищення забрудненого нафтою ґрунту повинна визначити необхідні методи, основані на наукових та експериментальних дослідженнях. Оцінка стану забрудненої території після застосування технології визначає можливість використання тієї чи іншої технології. У значній кількості біосорбентів, відмінною рисою яких є різноманітність використовуваних носіїв (сорбентів) та іммобілізованих на них культур мікроорганізмів. Однак питання їх використання для очищення піщаних ґрунтів залишається відкритим через специфіку. Отже, результати аналізу дають змогу зробити висновок, що розроблення біоактивного сорбенту світлого кольору з підвищеною руйнівною здатністю іммобілізованих мікроорганізмів є актуальним і необхідним.

**Мета роботи.** Метою дослідження є розроблення ефективної технології очищення піщаних ґрунтів від застарілих нафтових забруднень за допомогою спеціалізованих біосорбційних комплексів світлого кольору. Для досягнення цієї мети потрібно вибрати з наявних природних мінеральних і рослинних сорбційних матеріалів світлого кольору сорбент-носій, що володіє сорбційною активністю щодо вуглеводнів нафти та біосумісністю з нафтоокислювальними мікроорганізмами; виділити із забруднених нафтою природних об'єктів консорціум мікроорганізмів-деструкторів вуглеводнів широкого спектра дії, який володіє синергізмом і є стійким під час повернення в навколишнє середовище; визначити ефективність біосорбційного комплексу на зразках модельного піску, забруднених нафтопродуктами різного походження, та на зразках, відібраних на промислових об'єктах; випробувати біосорбентний комплекс (біосорбент) у промислових умовах; комплексне дослідження сорбційних, деструктивних (щодо нафтозабруднення) та інших фізико-хімічних властивостей біологічно модифікованих сорбентів.

**Матеріали й методи досліджень.** Як методологічну базу досліджень було використано праці вітчизняних і зарубіжних дослідників із питань виділення з аборигенної мікрофлори довготривало забруднених нафтою ґрунтів мікроорганізмів-деструкторів і оцінки їхніх деструктивних властивостей. Вивчено умови вирощування мікробної біомаси та іммобілізації клітин на сорбентах різного типу. Застосування зазначених методів, а також аналіз фактичного матеріалу дали змогу забезпечити об'єктивність отриманих висновків і результатів. Проведено комплексне дослідження сорбційних, деструктивних (щодо нафти) та інших фізико-хімічних властивостей біологічно модифікованих сорбентів різного складу. Об'єктами досліджень були рослинні відходи, вуглецеві матеріали, природні мінеральні сорбенти (глауконіт, смектоніт), біосорбційні комплекси, нафтопродукти різного походження, піщані ґрунти.

Серед сорбційних матеріалів світлих кольорів природний мох, глауконіт і смектоніт мають найкращі показники сорбційної активності як для нафти, так і для мікроорганізмів-деструкторів нафти. Глауконіт дуже поширений в осадових породах мілководного морського походження та в сучасних морських відкладах. Однак у природі він не утворює великих мономінеральних агрегатів, а трапляється лише у вигляді суміші з іншими мінералами глинистих або піщаних шарів. Тобто глауконіт споріднений із піщаними ґрунтами. Смектоніт- чи смектит – загальна назва для ді-тріоктаедричних шаруватих мінералів до групи монтмориллоніт. Відома здатність цих сорбентів пов'язувати бактеріальні клітини. Завдяки унікальній кристало-хімічній структурі природні смектити володіють колоїдними, адсорбційними, іонообмінними й вологоутримувальними властивостями.

Нафтоокислювальна група мікроорганізмів природного походження дуже різноманітна. Ідентифікація показала, що виділені мікроорганізми належать до родів: *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Xanthomonas*, *Alcaligenes*, *Nocardia*, *Brevibacterium*, *Candida*, *Mycobacterium*, *Beijerinckia*, *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Sphaerotilus*, *Streptomyces*. Вони характеризуються здатністю до засвоєння широкого спектра вуглеводнів, зокрема й ароматичних, мають високу швидкість зростання, активно утилізують нафту і нафтопродукти різноманітного складу, зокрема важкі фракції нафти.

Кількість закріпленої біомаси (абсолютно суха вага = а.с.в.) розраховували за різницею ваги зразка до та після обробки сорбента біомасою (вага в мг на 1 г ваги зразка). Результати дослідження показали, що сорбція біомаси на носії становить від 100 до 400 мг сухої біомаси на г сорбенту. Відомо, що під час «мономолекулярної» адсорбції (один шар клітин) питома сорбція біомаси куль-

тури становить 80–120 мг/г матеріалу. Як показали результати досліджень, найвища величина питомої сорбції у вуглецевого носія та перевищує рівень клітинного закріплення в 3–4 рази, що свідчить про наявність у матеріалі додаткового утримання клітин завдяки фізичному введенню в макропори. Серед сорбційних матеріалів світлого кольору найкращі показники щодо сорбційної активності як до нафти, так і до нафтоокислювальних мікроорганізмів мають смектит і глауконіт. Сорбційна здатність носія щодо мікробної культури дуже важлива під час створення біосорбційного комплексу та визначається адсорбційною взаємодією між біоносієм і біокультурою. Одним із важливих параметрів процесу іммобілізації, що характеризує можливість функціонування іммобілізованих клітин в умовах підвищеної гідродинамічної дії, є міцність їх утримання на поверхні носія. Тому нами було досліджено здатність до десорбції клітин із поверхні носіїв. У середньому 76 % клітин є в іммобілізованому стані на поверхні носія.

**Виклад основного матеріалу.** Дослідження процесу деструкції нафтозабруднення здійснювали на забруднених ґрунтах під час внесення мікроорганізмів-деструкторів у вигляді культуральної рідини та іммобілізованих на сорбенті. Біодеструктивну спроможність сорбенту з іммобілізованими мікроорганізмами-деструкторами контролювали за зниженням концентрації забруднювальної речовини (нафти) та накопиченням біомаси в системі. Іммобілізація консорціуму мікроорганізмів-деструкторів на носії є одним з ефективних прийомів підвищення активності мікроорганізмів й інтенсифікації процесу біодеструкції нафтопродуктів. Основними вимогами до таких носіїв є пориста структура й високорозвинена поверхня носія, здатного добре акумулювати поживні речовини, вологу. Сутність іммобілізації мікробних клітин – це прикріплення їх в активній формі до нерозчинної основи-матриці. Іммобілізація мікроорганізмів на поверхні сорбентів захищає їх від несприятливих факторів, збільшує біологічну активність мікробіоти й активізує процес розкладання нафти. Проведені дослідження показали, що іммобілізація МО на поверхні сорбційної матриці повинна бути частковою, щоб не знизити сорбційну ємність матеріалу щодо нафти. Достатня кількість іммобілізованих клітин на сорбент  $120 - 200 \times 10^{4-6}$  кл/г.

Як показали дослідження, потенціал нафтоокислювальних мікроорганізмів значно вищий, якщо вони іммобілізовані на поверхні сорбенту. Згідно з результатами досліджень вуглецевий сорбент (чорний колір) утримує на своїй поверхні достатню кількість нафтоокислювальних мікроорганізмів, що пояснюється наявністю на його поверхні різних за хімічною природою центрів: полярних і неполярних.

У табл. 1 надано порівняльні показники деструктивної активності біосорбційних комплексів на основі біомодефікованих носіїв. Під час застосу-

Таблиця 1

**Сорбційні властивості нафтопоглинальних матеріалів щодо мікроорганізмів-деструкторів і деструктивна активність біосорбційного комплексу**

Тип носія	Питома сорбція Мг а.с.в./г	Поверхнева концентрація клітин, мг/м <sup>2</sup>	Деструктивна активність % 100 діб
Деревне вугілля б/м (чорний колір)	12,7	65,94	91
Вугілля із стрижнів кукурудзи, б/м (чорний колір)	10,3	46,8	72
Глауконіт б/м	<b>11,1</b>	<b>28,9</b>	<b>65</b>
Монтморилоніт б/м	20,1	35,04	51
Смектоніт б/м	<b>21,1</b>	<b>35,94</b>	<b>65</b>

Таблиця 2

**Динаміка очищення ґрунту від нафти під час обробки біосорбційним комплексом**

Термін від початку очищення, доба	Вміст залишкової нафти, % (суглинок) Вуглецевий носій- носій глауконіт- смектоніт			Вміст залишкової нафти, % (пісок) Вуглецевий носій- носій глауконіт- смектоніт		
0	40	-	-	40	-	-
10	24	29	31	26	18	14
30	10,5	11	12	14	13	15
60	9,8	9	10	10,1	12	11
91	8,4	10	9	9,1	8	6
100	7,6	6	7	8,4	7	6
120	5,2	4	7	6	5	7
140	0,4	2,1	1,9	2,8	2,9	1,8

вання препарату на основі біомодифікованих глауконіту та смектоніту для обробки нафтозабрудненого піщаного ґрунту механізм дії його полягає не тільки в біохімічній деструкції нафти, але й в активізації бідних природних мікробних біоценозів. Вони можуть бути рекомендовані як світлі біосорбенти деструктивного типу для очищення нафтозабруднених піщаних ґрунтів.

Проведеними дослідженнями показано зміну концентрації нафти в процесі біодеструкції в промислових зразках ґрунту: чернозем, суглинок, пісок. Через 140 діб відбувалося зниження концентрації нафтового забруднення від 30–40 % до 1–5 %. Дослідження процесів біодеструкції нафти в піщаному ґрунті під дією біосорбційних комплексів на основі сорбційних матричних матеріалів різного типу, активізованих ідентичною композицією нафтоокислювальних мікроорганізмів природного походження, показали можливість застосування світлих композицій сорбент-мікробного складника на основі глауконіту та смектоніту (рис. 1, табл. 2).

У композицію вводили мікроелементи в кількості, яка необхідна для розвитку та життєдіяльності мікроорганізмів, суміш сполук для підтримки рН=6-8 та стартовий концентрат мікроорганізмів-деструкторів. Дослідження адсорбційних і деструктивних властивостей нафтопоглинальних біосорбційних комплексів щодо очищення піщаних ґрунтів із

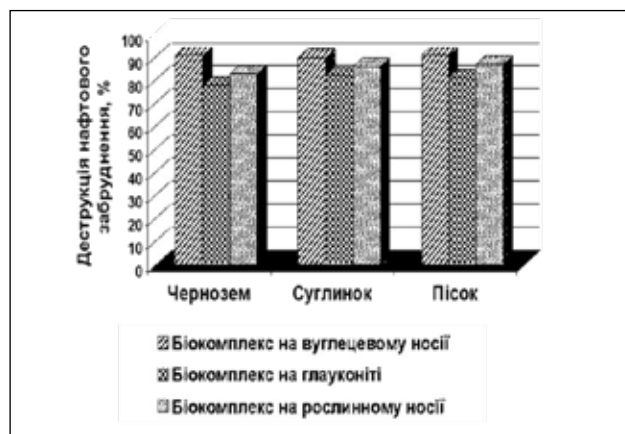


Рис. 1. Біодеструкція нафтового забруднення ґрунтів різного типу після обробки біосорбційним комплексом (через 140 діб)

застарілим нафтозабрудненням визначають напрями практичного впровадження технології отримання й застосування ефективних екологічно чистих біоактивних нафтосорбентів деструктивного типу.

**Головні висновки.** Створено світлий біосорбційний препарат деструктивного типу для очищення специфічних піщаних ґрунтів від нафти та застарілих нафтозабруднень. Як носій використано біологічно активний смектоніт світлого кольору, який має задовільну нафтоємність (4 г нафти / 1 г сорбенту)

та біосумісний із нафтоокислювальними мікроорганізмами. Вивчено умови одержання біосорбційного комплексу, запропоновано новий підхід до розв'язання проблем біоочищення забруднених ґрунтових середовищ, що полягає у створенні біосорбційних комплексів, у яких мікроорганізми-деструктори

закріплюються на носіях не інертних, а сорбційно-активних до забруднювача та мікроорганізмів. Результати досліджень підтверджують, що комплексний підхід до детоксикації забруднення – сорбція + мікробна деструкція – гарантує очищення нафтозабруднених піщаних ґрунтів.

#### Література

1. Полициклические ароматические углеводороды в почвах техногенных ландшафтов / Д.Н. Габов, В.А. Безносиков, Б.М. Кондратенко, Е.В. Яковлева. *Геохимия*. 2010. № 6. С. 606–617.
2. Поиск микроорганизмов, разрушающих нефть в различных природных зонах / М.Б. Куплетская, Л.И. Лопатина, Е.В. Порошенко, А.И. Нетрусов. *Экология и промышленность России*. 2009. № 7. С. 32–33.
3. Ананьева Н.Д. Микробиологические аспекты самоочищения и устойчивости почв. Москва : Наука, 2003. 223 с.
4. Пашаян А.А. Проблемы очистки загрязненных нефтью вод и пути их решения / А.А. Пашаян, А.В. Нестеров. *Экология и промышленность*. 2008. № 5. С. 32–35.
5. Другов Ю.С. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов : практ. руководство. Санкт-Петербург, 2000. 249 с.
6. Jurgensen K.S., Puustinen J., Suortti A.-M. Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by composting in biopiles. *Environmental Pollution*. 2000. Vol. 107. No. 2. P. 245–254. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0269-7491\(99\)00144-x](https://doi.org/10.1016/s0269-7491(99)00144-x).
7. Analysis of bacterial diversity and community structure in forest soils contaminated with fuel hydrocarbon / Ahn J.H. et al. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 16. P. 704–715.
8. Wagner-Dobler I., Bennasar A., Vancanneyt M., Strompl C., Brummer I., Eichneer C., Grammel I., Moore E.R.B. Micro-cosm Enrichment of Biphenyl-Degrading Microbial Communities from Soils and Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*. 1998. Vol. 64. № 8. P. 3014–3022.
9. Киреева Н.А. и др. Микробиологическая рекультивация нефтезагрязненных почв. Москва : ОАО «ВНИИОЭНГ», 2001. 40 с.
10. Khokhlov A., Strelko V., Khokhlova L. Physico-chemical features of bioactive carbon sorbents for oil. *Chemistry and Chemical Technology*. 2018. Vol. 12. № 3. P. 337–340. <https://doi.org/10.23939/chcht12.03.337>.