

ВИКОРИСТАННЯ РОСЛИННИХ БІОАКТИВОВАНИХ КОМПОЗИТІВ ДЛЯ ОЧИЩЕННЯ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ

Хохлов А.В., Хохлова Л.Й.

Інститут сорбції та проблем ендоекології Національної академії аграрних наук України
вул. Генерала Наумова, 13, 03164, м. Київ
techsorb@gmail.com, ispe@ispe.kiev.ua, khokhlova.lyudmila@gmail.com

На сучасному етапі історичну перспективу людства визначає екологічний фактор. Серед численних аварійних ситуацій з важкими екологічними наслідками є аварійні розливи нафти та нафтопродуктів. Особливості очищення ґрунтів, забруднених нафтою і нафтопродуктами, пов'язані зі здатністю ґрунту адсорбувати та накопичувати забруднюючі речовини. Мікробіологічні технології є перспективним напрямком в очищенні ґрунтів від забруднення нафтою. Рішенням проблем очищення є створення біосорбційних композитів, в яких мікроорганізми-деструктори нафти закріплюються на носіях, сорбційно-активних по відношенню до забруднювача та мікроорганізмів-деструкторів. Запропонована технологія біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів шляхом використання рослинних композитів, біоактивованих мікроорганізмами деструкторами нафти з високою активністю, що дозволяє довести залишковий вміст нафти до санітарного рівня. Розроблено принципи спільного використання рослинних сорбційних матеріалів і мікроорганізмів-деструкторів для очищення ґрунту, забрудненого нафтою, встановлено параметри одержання біосорбційного композиту та його застосування в біотехнології. Вивчено закономірності взаємодії сорбційної матриці з іммобілізованими мікроорганізмами деструкторами нафти. Запропоновано композит на основі відходів сої (шрот), біоактивованих природним комплексом нафтоокислюючих мікроорганізмів широкого спектру дії та ріпаковий лецитин як ефективний емульгатор. Для вибору штамів нафтоокислюючих мікроорганізмів (НОМ) проведено відбір проб з нафтозабруднених ґрунтів, осадів стічних та промислових вод. Виділено чисті культури вуглеводнеокислюючих бактерій, здійснено культивування та адаптація НОМ на щільному живильному середовищі з нафтою. Проведеними дослідженнями на ґрунтах різного типу з нафтозабрудненням 40% показано зменшення концентрації забруднення до 5% через 120 днів після обробки біоактивованим композитом. Внесення мікроорганізмів деструкторів, які руйнують нафтові забруднення, активізує процеси самоочищення ґрунту. *Ключові слова:* ґрунти, нафта, мікроорганізми-деструктори, соєвий шрот, лецитин, деструкція.

The use of vegetable bioactivated composites for cleaning oil-contaminated soils. Khokhlov A., Khokhlova L.

At the present stage, the historical perspective of mankind is determined by the ecological factor. Accidental spills of oil and oil products are among the numerous emergency situations with serious environmental consequences. Features of cleaning soils contaminated with oil and oil products are related to the soil's ability to adsorb and accumulate pollutants. Microbiological technologies are a promising direction in cleaning soils from oil pollution. The solution to cleaning problems is the creation of biosorption composites, in which oil-destroying microorganisms are fixed on carriers that are sorption-active in relation to the pollutant and destructive microorganisms. The proposed technology of bioremediation of oil-contaminated soils by using plant composites bioactivated by microorganisms with high activity of oil destroyers, which allows to bring the residual oil content to a sanitary level. The principles of the joint use of plant sorption materials and destructive microorganisms for the cleaning of oil-contaminated soil have been developed, the parameters of obtaining a biosorption composite and its use in biotechnology have been established. The regularities of the interaction of the sorption matrix with the microorganisms immobilized by the oil destructors were studied. A composite based on soybean waste (meal), bioactivated by a natural complex of oil-oxidizing microorganisms of a wide range of action and rapeseed lecithin as an effective emulsifier is proposed. For the selection of strains of oil-oxidizing microorganisms (NOM), samples were taken from oil-contaminated soils, sewage sludge, and industrial waters. Pure cultures of hydrocarbon-oxidizing bacteria were isolated, cultivation and adaptation of NOM on a dense nutrient medium was carried out with oil. Conducted research on soils of various types with 40% oil pollution showed a decrease in the concentration of pollution to 5% 120 days after treatment with a bioactivated composite. The introduction of destructor microorganisms that destroy oil pollution activates the processes of soil self-cleaning. *Key words:* soils, oil, destructive microorganisms, soybean meal, lecithin, destruction.

Постановка проблеми. Особливості очищення ґрунтів, забруднених нафтою і нафтопродуктами, пов'язані зі здатністю ґрунту адсорбувати й накопичувати забруднюючі речовини. Методи очищення залежать від рівня забруднення ґрунтів та для різних регіонів мають специфічні відмінності. Впровадження новітніх технологій очищення та відновлення нафтозабруднених ґрунтів мають першорядне значення для економічного і соціального розвитку країни. Перспективним напрямком очищення ґрунтів від нафтових забруднень

є мікробіологічні технології. Актуальною є розробка біоактивних сорбційних матеріалів на основі сировини природного походження, біоактивованих природним комплексом нафтоокислюючих мікроорганізмів широкого спектру дії. Внесення мікроорганізмів деструкторів, які руйнують нафтові забруднення, активізує процеси самоочищення ґрунту, коли активність природного біоценозу низька. Створення біологічно активних, екологічно чистих сорбційних композитів на основі рослинної сировини вимагає вивчення закономірностей взає-

модії сорбційної матриці з іммобілізованими мікроорганізмами деструкторами нафти.

Актуальність досліджень. Актуальним є спільне рішення двох завдань: екологічної – утилізація відходів рослинництва і технологічної – виробництво ефективних біосорбентів для вирішення екологічних завдань. Метою досліджень було дослідити можливість отримання екологічного біоактивного сорбційного композиту для очищення нафтозабруднених ґрунтів, оцінити ефективність дії композиту. Розроблення принципів спільного використання рослинних сорбційних матеріалів і мікроорганізмів-деструкторів для очищення ґрунту, забрудненого нафтою, встановлення параметрів одержання біосорбційного композиту та його застосування в біотехнології сприятиме ефективному та якісному відновленню нафтозабруднених ґрунтів.

Аналіз останніх досліджень та публікацій.

Нафта є складним і стійким забруднювачем. Є різноманітні технології та методи очищення ґрунтів від забруднення нафтою. Очищення забруднених однорідних і різнорідних ґрунтів шляхом промивання їх водою не технологічне та викликає сумніви [1]. Фізичне видалення ґрунту є найдавнішим методом рекультивації забрудненого ґрунту та передбачає повне видалення забруднень і відносно швидке очищення певної забрудненої ділянки ґрунту [2]. До недоліків можна віднести те, що забруднення просто переміщуються в інше місце, де необхідно контролювати стан забрудненого ґрунту. Питання мікробіологічної деструкції нафтозабруднення ґрунтів становлять значну частину зарубіжних і вітчизняних досліджень у галузі ґрунтової мікробіології [3-5]. Вуглеводні нафти доступні для засвоєння тільки спеціалізованим бактеріям. Така вибірковість щодо нафти лягла в основу бактеріальних методів детоксикації нафтового забруднення [6; 7]. Природний біокомплекс (природний біоценоз), що існує в ґрунті, активний там, де більше бактеріальних клітин утримується на ґрунтовій поверхні. Показано [8; 9], що введення в ґрунт адаптованих мікроорганізмів пришвидшує розкладання нафти. Іммобілізовані на різних сорбційних матеріалах мікроорганізми мають більший потенціал руйнівної дії. Іммобілізація підвищує життєздатність клітин мікроорганізму. Тому створення й дослідження біоактивних сорбційних композитів, що сорбують рухливий забруднювач (нафту) та розкладають нафту в локалізованому стані, є важливим для ґрунтів. Вибір оптимальних адсорбентів для іммобілізації мікроорганізмів може значно збільшити ефект їх використання. У значній кількості біосорбентів, відмінною рисою яких є різноманітність використовуваних носіїв (сорбентів) та іммобілізованих на них культур мікроорганізмів. Рослинні відходи – перспективний відновлюваний природний матеріал для створення біоактивних екосорбентів. Якість і деструктивна активність біоактивних композитів залежить не тільки від вибору

типу носія, але і в значній мірі від деструктивної здатності мікроорганізмів. Мікробні культури, виділені з природних об'єктів різних кліматичних районів, активно утилізують нафту і нафтопродукти різноманітного складу, в тому числі важкі фракції нафти. Природний консорціум ефективних нафтоокислюючих мікроорганізмів включає аеробні та мікроаерофільні різновиди, які мають подібний тип динамічних відносин. У природних умовах відбувається акумуляція позитивних властивостей об'єднаних мікроорганізмів.

Мета роботи. Метою дослідження є розроблення ефективної технології очищення ґрунтів від застарілих нафтових забруднень за допомогою спеціалізованого рослинного біоактивованого композиту. Для досягнення цієї мети потрібно застосовано відходи сої (шрот), біоактивовані природним комплексом нафтоокислюючих мікроорганізмів широкого спектру дії та ріпаковий лецитин як ефективний емульгатор. 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 композиту на зразках ґрунту, забрудненого нафтопродуктами різного походження. Комплексне дослідження сорбційних, деструктивних (щодо нафтозабруднення) та інших фізико-хімічних властивостей біологічно модифікованих композиту. Використанням природної, екологічно чистої сировини розробити активний екологічний композит – детоксикант.

Матеріали та методи досліджень. Об'єктами дослідження були: відходи сої (шрот), природний комплекс нафтоокислюючих мікроорганізмів (НОМ) широкого спектру дії та ріпаковий лецитин як ефективний емульгатор. Для вибору штамів НОМ проводився відбір проб з нафтозабруднених ґрунтів, осадів стічних та промислових вод, виділялися чисті культури вуглеводнеокислюючих бактерій, проводили культивування їх на щільному живильному середовищі. Культивування та адаптація НОМ проводилася на поживному середовищі з нафтою складу (г/см^3): Na_2CO_3 – 0,1; CaCl_2 – 0,01; MnSO_4 – 0,02; NaCl – 3,0; Na_2HPO_4 – 1,5; KH_2PO_4 – 1,0; K_2HPO_4 – 1,0; поживний агар для культивування МО – 20,0 г; нафту – 1см^3 , вода дистильована до 1дм^3 .

НОМ група природного походження дуже різноманітна. Як показали дослідження, найбільш активні бактеріальні види були віднесені до класів: *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 спектру вуглеводнів, включаючи і ароматичні, мають високу швид-

кість зростання. При модифікуванні соєвого шроту використовували мікробну суспензію з НОМ, що з'явилися на п'ятий день (рис. 1), що цілком виправдано, тому що невисокі деструктивні показники компенсуються високою інтенсивністю росту. Колонії мікроорганізмів, що з'явилися на десятий день, в залежності від виду культури, володіють середніми показниками при зростанні. В цій асоціації присутні в основному активні представники нафтодеструкторів, добре утилізують як легкі, так і середні фракції нафти. Групи НОМ, що з'явилися на п'ятнадцятий день, мають повільний темп росту, свої деструктивні властивості проявляють на важких фракціях нафти, які важко піддаються біологічному розкладу. Адаптація мікробної суміші до різних умов (температура, хімічний склад нафти і ін.) генерує біодеструктивну ефективність всієї групи мікроорганізмів в широкому діапазоні температур. З цією метою інкубація найбільш активної групи НОМ велася при різних температурах +5°C, +15°C, +25°C і +35°C.

Для одержання біосорбційного композиту поверхня носія обробляється культуральною рідиною з мікробними клітинами нафтодеструктора з біотитром 10^9 - 10^{10} КУО (колоній утворюючих одиниць), що містить мінеральні та органічні (нафта) поживні речовини. Як показали дослідження, потенціал нафтоокислюючих мікроорганізмів значно вищий, якщо вони іммобілізовані на поверхні носія. Такий композит може однаково добре використовуватися як для очищення ґрунтів, так і для очищення води при ліквідації інтенсивних забруднень і тонких райдужних плівок. У вологих ґрунтах мікроорганізми розмножуються краще, ніж у сухих, тому мікробна складова в біосорбційному препараті для очищення від нафтового забруднення таких ґрунтів повинна мати підвищену спрямовану активність. Сорбційна здатність залежить від властивостей ґрунтів, в першу чергу від капілярних сил, які визначаються гранулометричним складом ґрунту та його вологістю. Залежність міграції – накопичення нафти та нафтопродуктів у ґрунтах від рівня їх вологості підтверджена експериментально та показано

розрахунковими методами. При збільшенні вологості ґрунту менше можливість внутрішньо ґрунтового закріплення нафти та вища активність її переміщення. Водонасичені ґрунти зв'язують тільки залишкову кількість нафти у вигляді рідкої фази.

Виклад основного матеріалу. Для одержання біосорбційного композиту поверхня носія обробляється культуральною рідиною з мікробними клітинами нафтодеструктора. Сорбційна здатність носія відносно мікробної культури дуже важлива при створенні біосорбційного комплексу та визначається адсорбційною взаємодією між біоносієм та біокультурою. Тому нами було досліджена здатність до десорбції клітин з поверхні носіїв. В середньому 78% клітин ВОМ знаходяться в іммобілізованому стані на поверхні носія.

В модельовані зразки ґрунту нафту вводили в певних кількостях, а потім наносився біоактивований сорбент. Досліди проводили при температурах 15°C, 20°C, 30°C.

З метою підтримання необхідної вологості для забезпечення розвитку мікроорганізмів модельовані зразки обробляли відстоюною (2 доби) водопровідною водою (до вологості 20-30%). В процесі деструкції зростає кількість мікробних клітин впродовж перших 100 днів очистки, коли відбувається найбільша швидкість розкладення нафтопродукту. Динаміку деструкції нафти визначати по зміні вмісту залишкової нафти у ґрунті (табл. 1). Процес розкладення нафти у ґрунті має одну і ту ж закономірність для модельних і промислових зразків. Внесення лецитину, амонійного азоту, фосфору і калію посилює ефективність деградації нафти.

Проведені дослідженнями процесів біодеструкції нафти у ґрунті (чорнозем, суглинок, пісок) під дією біосорбційних комплексів на основі сорбційних матричних матеріалів різного типу, активованих ідентичною композицією нафтоокислюючих мікроорганізмів. Відбувається зміна концентрації нафти в процесі біодеструкції в зразках ґрунту. Через 120 діб концентрацію нафтового забруднення знижено від 40% до 1-5%.

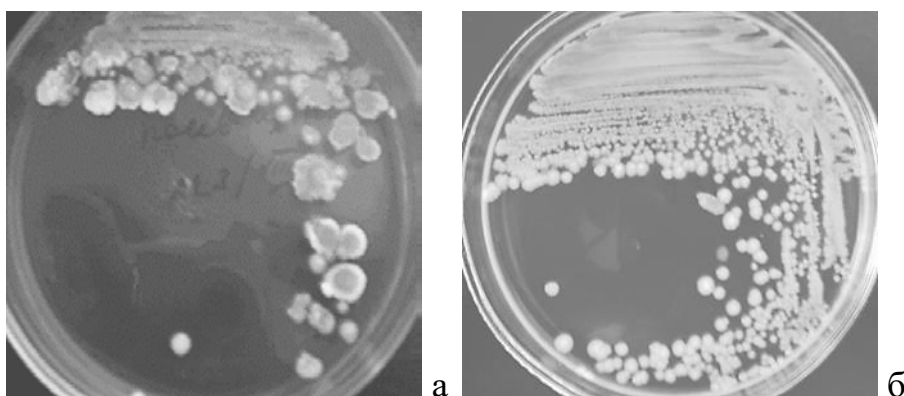


Рис. 1. Зростання НОМ: а – 2 день культивування, б – 5 день

Динаміка очищення ґрунту від нафти при обробці рослинним біоактивованим композитом

Термін від початку очищення, діб	Вміст залишкової нафти, % (суглинок)		Вміст залишкової нафти, % (пісок)	
	Сосвий шрот +НОМ	Сосвий шрот +НОМ +лецитин	Сосвий шрот +НОМ	Сосвий шрот +НОМ +лецитин
0	40	40	40	40
10	29	21	23	13
30	18	15	21	12
40	13	11	18	14
60	10,5	9	14	8
90	8,4	6	9,1	6
120	5,2	1	5	2

Кількісну та якісну оцінку деструкції вуглеводнів нафти визначали методом ІК-спектроскопії та ГРХ. Як показали дослідження, потенціал нафтоокислюючих мікроорганізмів значно вищий, якщо вони іммобілізовані на поверхні сорбенту. При цьому сорбенти не інертні, а активні в сорбційному відношенні до вуглеводів. Такий біосорбційний композит на основі відходів сої (шрот), біоактивованих природним комплексом нафтоокислюючих мікроорганізмів широкого спектру дії та ріпаковий лецитин як ефективний емульгатор дозволяє на 90% відновити нафтозабруднений ґрунт.

Головні висновки. Вивчено можливість отримання композиту на основі відходів сої (шрот),

біоактивованих природним комплексом нафтоокислюючих мікроорганізмів широкого спектру дії, та ріпакового лецитину як ефективного емульгатора. Перевагою композиту є його екологічність, оскільки в ньому використовується лігнінцелюлозовмісна сировина – відходи рослинництва і природний комплекс нафтоокислюючих мікроорганізмів.

Дослідження показують, що екосорбенти на основі композиту з відходів сої (шрот), біоактивовані природним комплексом нафтоокислюючих мікроорганізмів можуть бути використані як ефективні, доступні, екологічно чисті і недорогі сорбційні матеріали для детоксикації нафти у ґрунтах.

Література

1. Мандрик В. О. Управління відтворенням порушених земель: вибір інструментів екологічної політики. *Вісник аграрної науки*. 2000. № 11. С. 117–121.
2. 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).
3. Abdel-Shafy, H. I. and Mansour, M. S. M. (A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egypt. J. Petrol.* 2016. No. 25. P. 107–123. doi: 10.1016/j.ejpe.2015. 03.011
4. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry/Alexander M. Aging bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environ. Sci. Technol.* 2000. No. 34. P. 4259–4265.
5. Alonso-Gutierrez, J., Figueras, A., Albaiges, J., Jimenez, N., Vinas, M., Solanas, A. M., et al. Bacterial communities from shoreline environments (costa da morte, northwestern Spain) affected by the prestige oil spill. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009. No. 75. P. 3407–3418. doi: 10.1128/AEM.01776-08
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. Andersson, B. E., Lundstedt, S., Tornberg, K., Schnurer, Y., Oberg, L. G., and Mattiasson, B. Incomplete degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil inoculated with wood-rotting fungi and their effect on the indigenous soil bacteria. *Environ. Toxicol. Chem.* 2003. No. 22. P. 1238–1243. doi: 10.1002/etc.5620220608
8. Andreoni, V., Cavalca, L., Rao, M. A., Nocerino, G., Bernasconi, S., Dell'Amico, E. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. *Chemosphere*. 2004. No. 57. P. 401–412. doi: 10.1016/j.chemosphere.2004.06.013
9. Ang, J. L., Zhao, H., and Obbard, J. P. Recent advances in the bioremediation of persistent organic pollutants via biomolecular engineering. *Enzyme Microb. Technol.* 2005. No. 37. P. 487–496. doi: 10.1016/j.enzmictec.2004. 07.024