

УДК 502.52–027.21; 631.6.02–027.2

*А. С. САМСОНОВА*

## ТЕХНОЛОГИЯ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА ЭКОБЕЛ

*(Представлено академиком А. Г. Лобанком)*

*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск*

*Поступило 12.05.2014*

**Введение.** Республика Беларусь обладает значительным количеством промышленных предприятий, добывающих, транспортирующих, хранящих и перерабатывающих нефть. Аварийные разливы нефти и нефтепродуктов на почве и воде, а также систематическое поступление их в окружающую среду при использовании, транспортировке и переработке создают, в ряде случаев, критическую нагрузку на природные компоненты. Очистка природных и производственных объектов, загрязненных нефтью и продуктами ее переработки, является одной из задач охраны окружающей среды, основанной на использовании физико-химических, химических и биологических методов [1]. Использование биологических методов для очистки природных и производственных объектов экономически обосновано и экологически оправдано. Применение их дешевле физико-химических способов, экологически безопасно, приводит к полной минерализации загрязняющих веществ.

Биотехнологические приемы очистки почвы от загрязнения нефтью и нефтепродуктами основаны на использовании метаболической активности микроорганизмов, потребляющих в качестве источников питания практически любое органическое соединение. Методы биоремедиации экосистем от загрязняющих веществ включают приемы, основанные на активации метаболической деятельности естественной микрофлоры в месте обитания путем изменения соответствующих физико-химических условий среды, а также на внесении в загрязненные природные и производственные объекты (почвы, сточные воды, природные водоемы и др.) специально подобранных популяций микроорганизмов – деструкторов ксенобиотиков [2]. Использование микроорганизмов – активных деструкторов углеводов для разрушения нефти осуществляется путем создания и интродукции высокоактивных микробных препаратов-биоремедиаторов в загрязненные природные и производственные среды [3]. В Институте микробиологии НАН Беларуси для ликвидации последствий загрязнения почвы в результате аварийных разливов нефти разработан микробный препарат Экобел, который по материалам информационно-аналитического агентства Cleandex и интернет-журнала «Коммерческая биотехнология» известен в России наряду с другими популярными препаратами-биоремедиаторами такими, как «Путидойл», «Олеоворин», «Нафтокс», «Uni-rem», «Родер», «Центрин», «Псевдомин», «Дестройл», «Микромицет», «Лидер», «Валентис», «Деворойл» (РФ), «Родобел», «Родобел-Т» (Беларусь), «Эконадин», «Десна», «Консорциум микроорганизмов» и «Simbinal» (Украина).

Основные преимущества препарата Экобел заключаются в более высокой эффективности применения и стоимости ниже цены мировых аналогов.

Цель работы – анализ эффективности использования микробного препарата Экобел для очистки почвы, загрязненной в результате аварийного разлива нефти.

**Материалы и методы исследования.** Количественное определение нефтепродуктов проводили в образцах почвы на 16 контрольных площадках по «Методике выполнения измерений массовой доли нефтепродуктов в пробах почв и грунтов флуориметрическим методом на анализаторе жидкости «Флюорат-02» (Методика М 03-03-2007, Санкт-Петербург) [4].

Содержание в почве, обработанной препаратом Экобел, микроорганизмов – деструкторов нефти определяли методом посева серийных разведений почвенной вытяжки на синтетическую среду Е-8 с гексадеканом в качестве источника углерода [5].

Объектом исследования явилась почва, загрязненная нефтью в результате аварийного механического повреждения нефтепровода на территории, расположенной в двух километрах от д. Грушевка Каменецкого р-на, площадью, равной 11906 м<sup>2</sup>, с давностью загрязнения 2 года.

Почва преимущественно представлена суглинком при наличии супеси, что требует усиленного режима увлажнения и рыхления при обработке ее микробным препаратом Экобел.

На загрязненном участке среди 16 контрольных площадок выявлены 7, содержащих большое количество крупных обгорелых почвенных комков, образованных в результате возгорания нефти, разлившейся во время аварии (рисунок).

Для очистки почвы, загрязненной нефтепродуктами, использовали препарат Экобел, состоящий из смеси микроорганизмов рода *Rhodococcus* (*Rhodococcus erythropolis* 23Ф, 70Ф, 37Ф и *Rhodococcus ruber* 2В).

Жидкая форма препарата Экобел в виде культуральной жидкости составляющих его микроорганизмов наработана на РУП «Энзим» (г. Пинск) в соответствии с ТУ РБ 100289066.024–2004. Норма внесения жидкой формы препарата для очистки почвы от нефти рассчитывается исходя из соотношения нефть : препарат, равного 1 : 0,025.

**Результаты и их обсуждение.** Технология очистки почвы, включала следующие этапы:

на участок, подлежащий рекультивации, доставлен препарат Экобел в количестве 15000 л (4,8 м<sup>3</sup> на бензовозе ГАЗ-3307 и 10,2 м<sup>3</sup> в 10 пластмассовых емкостях, установленных на специализированном КАМАЗе 43118);

препарат Экобел с помощью пожарных шлангов с регулируемой подачей стволов, оборудованных на автоматизированной пожарной цистерне ёмкостью 3 м<sup>3</sup>, был нанесен на загрязненную почву путем орошения. Первый этап нанесения осуществили с использованием 7,5 м<sup>3</sup> препарата;

после нанесения препарата Экобел на поверхность загрязненной почвы она была подвержена механическому рыхлению с целью равномерного распределения препарата в объеме обработанной почвы. Дискование провели с использованием трактора К700А, оснащенного дисковой бороной БДМ 2,5 с шириной захвата 2,5 м;

после дискования почву, обработанную препаратом, обильно увлажнили путем орошения с помощью пожарных шлангов с регулируемой подачей стволов, оборудованных на автоматизированной пожарной цистерне;

повторное нанесение препарата Экобел в количестве 7,5 м<sup>3</sup> осуществили после увлажнения почвы;



Фрагмент поверхности загрязненной почвы контрольной площадки 1

повторное дискование провели после увлажнения почвы, обработанной препаратом Экобел, для активного перемешивания микроорганизмов – деструкторов нефти с содержащимися в почве нефтяными углеводородами;

после повторного дискования в почву, обработанную препаратом Экобел, внесли NPK в виде полного минерального удобрения (амофоска) для обеспечения сбалансированного питания микроорганизмов – деструкторов нефти;

после внесения полного минерального удобрения почву продисковали совместно с обильным поливом ранее описанными способами.

Контроль содержания углеводородов нефти в очищаемой почве (на 16 контрольных площадках, характеризующихся различным уровнем загрязнения нефтяными углеводородами) с целью наблюдения за динамикой процесса их деструкции в результате примененной технологии использования препарата Экобел осуществляли 28.06; 25.08; 22.09; 26.10.2011 г.

В течение четырех месяцев (с 28 июня до 26 октября) содержание нефти в почве, обработанной препаратом, снизилось в соответствии с исходным уровнем загрязнения (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Динамика содержания углеводородов (УВ) в загрязненной почве, обработанной препаратом Экобел

№ пробной площадки	Содержание УВ, мг/кг				Снижение содержания УВ, % от исходного
	Дата проведения анализа				
	28.06	25.08	22.09	26.10	За 4 месяца
1	3815	1534	1301	660	82,7
2	4833	1855	1239	805	83,3
3	4901	1620	941	525	89,3
4	5594	1486	1200	795	85,8
5	11199	6344	3773	1410	87,4
6	12049	2785	2078	1250	89,6
7	1780	585	50	25	98,6
8	395	105	50	0	100
9	165	50	5	0	100
10	255	45	5	0	100
11	60	35	10	0	100
12	155	25	0	0	100
13	280	15	5	5	100
14	55	10	0	0	100
15	55	5	0	0	100
16	55	10	0	0	100

Почва с исходным уровнем загрязнения нефтяными углеводородами, составившим от 280 до 55 мг/кг (площадки 10–16), в результате обработки препаратом Экобел была очищена до ПДК за 2 месяца. Период деструкции нефти до предельно допустимой концентрации в образцах почвы с уровнем загрязнения от 395 до 1780 мг/кг (площадки 7 и 8) составил 3 месяца.

Случаи возгорания нефти в период аварийных порывов нефтепроводов редки и сопровождаются усложнением процесса очистки территорий, загрязненных остатками не окончательно сгоревших на почве углеводородов. Это связано с невозможностью механического разрыхления спекшихся с почвой тяжелых фракций нефти, что снижает контакт загрязняющего вещества с микроорганизмами-деструкторами и существенно влияет на сроки осуществляемой ими деструкции углеводородов.

Примененная для биоремедиации двукратная обработка почвы, загрязненной остатками сгоревшей на ней нефти, препаратом Экобел позволила достичь высокого для данной ситуации уровня очистки почвы. Углеводороды в концентрации от 3815 до 12049 мг/кг (площадки 1–6) в результате первой обработки препаратом (28.06.2011) были разрушены в образцах исследуемой почвы на 60–83 % за 2 месяца и на 82–90 % за 4 месяца. Наблюдаемое несоответствие степени деструкции углеводородов их начальной концентрации объясняется различным количеством в очищаемой почве жидкой нефти и тяжелых продуктов, содержащихся в неокончательно сгоревшей нефти. Углеводороды в концентрации 11199 и 12049 мг/кг были представлены в почве 5-й

и 6-й площадок большим количеством жидкой нефти, которая активнее разрушалась микроорганизмами-деструкторами, составляющими препарат Экобел.

Контроль содержания углеводородов в почве данных участков через год после применения препарата Экобел выявил отсутствие их на всех контролируемых площадках. Это свидетельствует о пролонгированном эффекте деструктивных свойств препарата.

Эффективная деструкция нефти в почве при обработке ее препаратом Экобел подтверждается показателями развития в ней микроорганизмов – деструкторов углеводородов. Результаты, приведенные в табл. 2, свидетельствуют об увеличении численности деструкторов в почве в 6–14 раз через месяц после интродукции в нее специализированных микроорганизмов-деструкторов. Снижение содержания нефти в почве в процессе утилизации ее микроорганизмами, составляющими препарат Экобел, сопровождается соответственным снижением количества самих деструкторов в связи с исчерпанием необходимого для их развития источника углерода.

Т а б л и ц а 2. Динамика развития микроорганизмов – деструкторов нефтепродуктов в загрязненной почве, обработанной препаратом Экобел

№ пробы	Количество КОЕ в 1 г сухой почвы, $1 \cdot 10^7$		
	До внесения препарата Экобел	Через 1 месяц после внесения препарата Экобел	Через 4 месяца после внесения препарата Экобел
1	$0,27 \pm 0,07$	$2,70 \pm 0,10$	$0,99 \pm 0,10$
2	$0,30 \pm 0,02$	$2,45 \pm 0,13$	$0,77 \pm 0,12$
3	$0,20 \pm 0,01$	$2,23 \pm 0,06$	$0,70 \pm 0,11$
4	$0,22 \pm 0,03$	$2,16 \pm 0,02$	$0,51 \pm 0,20$
5	$0,20 \pm 0,02$	$2,90 \pm 0,01$	$1,01 \pm 0,20$
6	$0,44 \pm 0,02$	$3,60 \pm 0,30$	$1,92 \pm 0,18$
7	$0,40 \pm 0,02$	$2,44 \pm 0,17$	$0,77 \pm 0,12$
18 (к)	$0,26 \pm 0,02$	$0,59 \pm 0,07$	$0,36 \pm 0,10$

**Закключение.** Микробным препаратом Экобел обработан участок почвы размером  $12000 \text{ м}^2$ , содержащий 1800 кг нефтяных углеводородов. Норма расхода препарата с микробной нагрузкой  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/мл из расчета нефть : препарат 1 : 0,025 составила 1,25 л, содержащих 3,7 г биомассы микроорганизмов – деструкторов нефти, на  $1 \text{ м}^2$  загрязненной почвы. Показатели эффективности деструкции нефти в условиях, осложненных как сроком ее поступления в почву (давность разлива нефти 2 года), так и уровнем содержания в почве нефтепродуктов, «тяжелых» для микробной деструкции (остатки не полностью сгоревшей в почве нефти), свидетельствуют о высоком биоремедиационном потенциале препарата Экобел для очистки нефтезагрязненной почвы. Они могут служить основанием для успешного расширения сферы применения препарата с целью очистки грунтов и шламов, содержащих продукты переработки нефти, проблемные для микробной деструкции.

### Литература

1. Corapcioglu M. J., Hossain M. A. // J. Theor. Biol. 1990. Vol. 142, 4. P. 503–516.
2. Brown L. R. // Chem. Eng. Progr. 1987. Vol. 83, N 10. P. 35.
3. Пат. 3418 ВУ, МПК 6- В 09С 1/10, 101:00, С 09К 3/32. Способ очистки почвы от нефти / А. С. Самсонова, З. М. Алещенкова, А. Э. Томсон, В. Н. Журавлев, Н. Ф. Семочкина, М. М. Бегельман. – № 970052; Заявл. 06.02.97; Опубл. 30.06.2000 // Афіцыйны бюлетэнь / Дзярж. пат. ведамства Рэсп. Беларусь. 2000. № 2. С. 87.
4. Методика выполнения измерений массовой доли нефтепродуктов в пробах почв и грунтов флуориметрическим методом на анализаторе жидкости «ФЛЮОРАТ-02», Методика М 03-03-2007. Санкт-Петербург, 2007. – 22 с.
5. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под. ред. Д. Г. Звягинцева. М., 1991. – 304 с.

A. S. SAMSONOVA

microbio@mbio.bas-net.by

### TECHNOLOGY AND APPLICATION EFFICIENCY OF MICROBIAL PREPARATION ECOBEL

#### Summary

A high application efficiency of microbial preparation Ecobel for remediation of soil polluted with hydrocarbons resulting from emergency oil spills was demonstrated.

Expense of liquid biopreparation calculated at 1: 0.025 oil-Ecobel ratio equaled 1.25 liters of the product encharged with microbial titer  $1 \cdot 10^9$  a CFU/ml and containing 3.125 g biomass of petroleum-degrading species per  $1 \text{ m}^2$  of contaminated soil.