

Оценка биологической активности техногрунтов на основе буровых шламов для рекультивации нарушенных земель

© 2020. Э. Х. Сакаева, к. т. н., доцент,

Л. В. Рудакова, д. т. н., профессор,

Пермский национальный исследовательский политехнический университет,
614990, Россия, г. Пермь, Комсомольский проспект, д. 29,
e-mail: elya2182@mail.ru

В статье рассмотрена биологическая активность буровых шламов и техногрунта на их основе, а также торфа и дерново-подзолистой почвы, как контрольных образцов. В качестве индикаторных показателей биоактивности грунтов определены качественный и количественный состав микробиоценоза, а также активность фермента уреазы. На основании проведённого анализа было установлено, что высокие концентрации нефтепродуктов, а также хлорид-ионов оказывают ингибирующее действие на микробиоценоз буровых шламов и уреазную активность. Снижение концентраций загрязняющих веществ путём приготовления техногрунта на основе буровых шламов, торфа и органоминеральных добавок позволяет повысить уреазную активность и достичь разнообразия микробиоценоза. Высокая биологическая активность техногрунтов даёт основание для возможного использования их при рекультивации нарушенных земель.

Ключевые слова: буровые шламы, техногрунт, торф, микроорганизмы, ферментативная активность, уреазная активность.

Assessment of the biological activity of industrial soils based on drill slurries for reclamation of disturbed lands

© 2020. E. Kh. Sakaeva ORCID: 0000-0001-8303-668X

L. V. Rudakova ORCID: 0000-0003-3292-8359

Perm National Research Polytechnic University,
29, Komsomolskiy Prospekt, Perm, Russia, 614990,
e-mail: elya2182@mail.ru

The article considers the biological activity of drilling slurries selected on the territory of oil deposits in the Perm region and technical grounds based on it. As control samples, peat was considered as one of the components of technical ground and sod-podzolic soil as the main type of soil in the Perm region. The qualitative and quantitative composition of the microbiocenosis, and the activity of the urease enzyme, were selected as indicators of the biological activity of soils.

The main pollutants that affect the toxicity of drilling slurries are petroleum products and chloride ions. Based on the results of experimental studies, it was found that the qualitative and quantitative characteristics of the microbiocenoses of drilling slurries and technical grounds depend on such abiotic factors as the content of pollutants and pH. High concentrations of chloride ions and petroleum products in drilling slurries have an inhibitory effect on the main groups of microorganisms. Reducing the concentrations of pollutants in the technical grounds based on drilling slurries has a positive effect on the qualitative and quantitative characteristics of the microbial community.

Based on the analysis, it was found that high concentrations of petroleum products, as well as chloride ions, have an inhibitory effect on urease activity. Reducing the concentrations of pollutants by preparing technical grounds based on drilling slurries, peat and organo-mineral additives can increase urease activity and achieve a diversity of microbial communities. The high biological activity of techno-soils gives grounds for their possible use in the reclamation of disturbed lands.

Keywords: drilling slurries, technical ground, peat, microorganisms, enzymatic activity, urease activity.

Биологическая активность почв в совокупности с их физическими и химическими свойствами является важным показателем, который указывает на плодородие почв. Она оценивается по таким критериям, как биомасса микроорганизмов (МО), их качественный состав и количество, а также ферментативная активность [1, 2]. Ферменты играют важную роль в процессах, протекающих в почвах, выступая катализаторами химических, физических и биологических реакций. Ферменты почв обладают высокой чувствительностью к изменениям, которые вызваны природными или антропогенными воздействиями [3–5]. Исследования в данной области показали, что ферментативная активность почв может быть использована в качестве индикаторного показателя загрязнения почв и её плодородия [6]. Оценка биологической активности также может быть использована и для характеристики техногенных грунтов, например, техногрунтов, полученных на основе отходов производства.

Ежегодно при бурении скважин при добыче нефти и газа образуются большие объёмы буровых отходов, включающие буровые шламы, нефтезагрязнённые почвы и грунты, а также буровые сточные воды. Буровые шламы состоят из природных и антропогенных компонентов – это частицы выбуренной породы, элементы подземных вод (пресные воды, воды с высокой минерализацией и др.), нефть и нефтепродукты, а также буровые растворы [7].

Объёмы буровых шламов постоянно увеличиваются, в связи с чем возникает проблема их утилизации. На сегодняшний день существуют различные направления использования буровых шламов, одним из которых является техническая и биологическая рекультивация. Полученный техногрунт из буровых шламов для рекультивации должен отвечать определённым требованиям как по химическим, так и по биологическим показателям.

Цель настоящей работы заключалась в оценке возможности использования техногрунтов на основе буровых шламов для технического и биологического этапов рекультивации с использованием в качестве индикаторных показателей количественного и качественного состава МО, а также ферментативной активности грунтов.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись буровые шламы, отобранные на территории нефтяных месторождений Пермского края, а также техногрунт, приготовленный на основе данных буровых шламов с добавлением торфа и органоминеральных компонентов.

Согласно литературным данным [7], основными загрязняющими веществами (ЗВ), которые влияют на токсичность буровых шламов, являются нефтепродукты и хлорид-ионы. Поэтому в исходном буровом шламе и техногрунте на его основе определение концентраций данных веществ было приоритетным.

Анализ химического состава исходных буровых шламов, а также полученного техногрунта на основе буровых шламов, проводили в аккредитованной аналитической лаборатории по стандартным методикам.

В таблице 1 представлена характеристика химического состава буровых шламов и техногрунта на основе бурового шлама. В качестве контрольных образцов были выбраны торф, как компонент техногрунта, и дерново-подзолистая почва (основной тип почв, распространённый на территории Пермского края).

Программа экспериментальных исследований включала в себя следующие этапы: первый этап – определение микробного состава опытных и контрольных образцов буровых шламов, почв и грунтов; второй этап – определение ферментативной активности образцов.

Таблица 1 / Table 1

Химический состав исходных буровых шламов, почв и техногрунтов
Chemical composition of initial drilling slurries, soils and technical grounds

Показатель Indicator	Буровой шлам The drilling slurries	Техногрунт The technical ground	Торф The peat	Дерново-подзолистая почва Sod-podzolic soil
Реакция среды pH The reaction of medium (pH)	7,8±0,1	8,0±0,1	5,2±0,1	7,2±0,1
Хлорид-ионы, мг/кг Chloride ions, mg/kg	68000±10000	3500±520	190±29	29±4
Нефтепродукты, мг/кг Oil products, mg/kg	3600±900	2700±660	1900±490	120±14

Таблица 2 / Table 2

Микробиологическая характеристика буровых шламов, техногрунта и контрольных образцов почв
Microbiological characteristics of drilling slurries, technical ground and control soil samples

Показатель Indicator	Буровой шлам The drilling slurries	Техногрунт The technical ground	Торф The peat	Дерново-подзолистая почва Sod-podzolic soil
Общий счёт бактерий, кл./г Total bacterial count, cells/g	$(6,7 \pm 1,3) \cdot 10^7$	$(11,2 \pm 2,2) \cdot 10^8$	$(12,5 \pm 2,5) \cdot 10^7$	$(14,0 \pm 2,8) \cdot 10^8$
Сапрофитные бактерии, КОЕ/г Saprophytic bacteria, CFU/g	$(1,3 \pm 0,3) \cdot 10^3$	$(3,1 \pm 0,6) \cdot 10^5$	$(6,3 \pm 1,3) \cdot 10^3$	$(2,8 \pm 0,6) \cdot 10^6$
Углеродородокисляющие микроорганизмы, КОЕ/г Hydrocarbon-oxidizing microorganism, CFU/g	$(2,1 \pm 0,4) \cdot 10^2$	$(6,5 \pm 1,3) \cdot 10^3$	не обнаружены not detected	
Актиномицеты, КОЕ/г Actinomycetes, CFU/g	не обнаружены not detected	$(6,3 \pm 1,2) \cdot 10^2$	$(1,1 \pm 1,0) \cdot 10^2$	$(17,7 \pm 3,5) \cdot 10^2$
Микроскопические грибы, КОЕ/г Microscopic fungi, CFU/g		$(6,7 \pm 1,3) \cdot 10^3$	$(5,1 \pm 0,2) \cdot 10^2$	$(12,4 \pm 2,5) \cdot 10^3$

Оценку микробного состава опытных образцов бурового шлама и техногрунта, а также контрольных образцов торфа и дерново-подзолистой почвы, проводили по следующим показателям: общая численность МО; численность сапрофитных и углеродородокисляющих микроорганизмов (УВОМ), актиномицетов и микроскопических грибов. Для выявления бактерий р. *Azotobacter* использовали метод почвенных комочков. Данный метод даёт возможность обнаружить азотобактер даже при низкой встречаемости.

Для выявления и учёта численности МО использовали методы прямого микроскопирования и методы посева на различные селективные среды. Для оценки общего количества МО использовали метод прямого счёта, при этом подсчитывали только бактерии, микроскопические грибы не учитывали. Посев на селективные среды осуществляли с учётом группы МО: для сапрофитных бактерий использовали мясопептонный агар, для УВОМ – минеральную среду «К», для бактерий р. *Azotobacter* – среду Эшби, для актиномицетов – крахмало-аммиачный агар и для микроскопических грибов – среду Чапека.

В качестве индикаторного показателя ферментативной активности почв и грунтов была выбрана уреазная активность. Данный фермент относится к классу гидролаз и обладает чувствительностью при загрязнении различными ксенобиотиками. Определение уреазной активности проводили колориметрическим методом Гоффмана и Тейхлера [8, 9], который основан на определении количества аммиака, образующегося при гидролизе мочевины, с образованием окрашенного ин-

дофенола и остатка негидролизованной части субстрата. Выбор метода обусловлен тем, что он входит в нормативный документ «Временные методические рекомендации по контролю загрязнения почв. Часть 2». М.: Гидрометеиздат, 1984.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследований был определён микробиологический состав буровых шламов, техногрунта на основе бурового шлама и контрольных образцов торфа и дерново-подзолистой почвы. В таблице 2 представлена микробиологическая характеристика опытных и контрольных образцов.

Как показали исследования, в образце бурового шлама микробное сообщество не отличалось разнообразием. Основные группы МО были представлены сапрофитами и УВОМ, тогда как актиномицеты и микроскопические грибы отсутствовали.

Микробное сообщество техногрунта на основе бурового шлама и торфа характеризовалось большим разнообразием, чем буровой шлам и торф по отдельности. В техногрунте были обнаружены сапрофитные бактерии, УВОМ, актиномицеты и микроскопические грибы. Увеличение разнообразия микробоценоза техногрунта свидетельствует о снижении концентраций ЗВ по сравнению с буровым шламом, а также о наличии дополнительных источников питания в виде органоминеральных добавок.

Кроме основных групп МО, в опытных и контрольных образцах определяли наличие бактерий р. *Azotobacter*. Данный род бактерий развивается в почвах при наличии простых

органических соединений при почти нейтральной среде. В таблице 3 представлены параметры роста и развития бактерий р. *Azotobacter*.

В результате исследований было выявлено, что лучшее развитие бактерий р. *Azotobacter* наблюдается в дерново-подзолистой почве (табл. 3), тогда как в торфе бактерии данного рода практически отсутствовали, что связано с кислой реакцией убстрата. При этом средний диаметр колоний, выделенных из дерново-подзолистой почвы, в 2 раза больше, чем в торфе. В буровом шлеме также наблюдали невысокий процент обрастания (20%) комочков бактериями р. *Azotobacter* и малый диаметр колоний (0,2–0,3 см). В техногрунте наблюдали увеличение процента обрастания до 70% и диаметра колоний азотобактера до 0,5–0,7 см, что говорит о снижении токсичности грунта в результате разбавления бурового шлама торфом, близкой к нейтральной реакции среды и присутствия органоминеральных добавок.

Результаты микробиологического анализа бурового шлама, техногрунта, торфа и дерново-подзолистой почвы показали, что качественные и количественные характеристики микробного биоценоза зависят от концентрации ЗВ и реакции среды рН. Буровой шлам в своём составе содержит высокие концентрации хлорид-ионов, что оказывает ингибирующее действие на рост МО. Наличие невысоких концентраций нефтепродуктов в буровых шламах является питательной средой для УВОМ.

Кислая реакция среды торфа также является ингибитором для роста и развития отдельных групп МО. Микробиологический состав техногрунта (смесь бурового шлама, торфа и органоминеральных добавок) характеризовался большим разнообразием, чем буровой шлам, что связано с пониженным содержанием ЗВ (хлорид-ионов и нефтепродуктов) и наличием дополнительных источников питания (органоминеральные добавки).

На втором этапе исследований была изучена ферментативная активность буровых шламов, техногрунта и контрольных образцов торфа и дерново-подзолистой почвы. Известно, что уреазная активность может быть использована в качестве показателя загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами, а также является показателем плодородия почв [10–13]. Результаты исследований уреазной активности представлены в таблице 4.

Уреазная активность характеризует интенсивность и направленность микробиологических процессов как в естественных, так и в антропогенно нарушенных средах. Результаты определения уреазы в опытных и контрольных образцах показали, что наибольшие значения наблюдали в техногрунте и дерново-подзолистой почве.

Уреазная активность буровых шламов оказалась ниже, чем в техногрунте, что объясняется наличием повышенных концентраций нефтепродуктов и высоких концентраций хлорид-ионов. Из литературных источников [14, 15] известно, что данные ЗВ оказывают

Таблица 3 / Table 3

Параметры роста и развития бактерий рода *Azotobacter*
Parameters of growth and development of *Azotobacter* bacteria

Параметр Parameter	Буровой шлам The drilling slurries	Техногрунт The technical ground	Торф The peat	Дерново-подзолистая почва Sod-podzolic soil
Обрастание комочков, % Fouling lumps, %	20,0	70,0	10,0	100,0
Средний диаметр колоний, см Average diameter of the colonies, cm	0,2–0,3	0,5–0,7	0,4–0,5	0,8–1,0

Таблица 4 / Table 4

Уреазная активность в опытных и контрольных образцах
Urease activity in experimental and control samples

Ферментативная активность Enzymatic activity	Буровой шлам The drilling slurries	Техногрунт The technical ground	Торф The peat	Дерново-подзолистая почва Sod-podzolic soil
Уреазная активность, NH ₃ мг/г Urease activity, NH ₃ mg/g soil	0,142±0,028	0,35±0,07	0,0025±0,0005	0,40±0,08

ингибирующее действие на уреазную активность, при этом, чем выше их концентрации, тем сильнее происходит угнетение данного фермента. Но, несмотря на высокие значения хлоридов в буровых шламах, действие уреазы полностью не было подавлено.

Уреазная активность в торфе выражена слабо, что может быть связано с низким содержанием гумусовых веществ.

Техногрунт на основе бурового шлама характеризовался высоким содержанием уреазы, которое приближалось к аналогичным значениям в дерново-подзолистой почве. Это объясняется тем, что в техногрунте наблюдаются низкие значения концентраций ЗВ по сравнению с буровым шламом, а также высокой микробиологической активностью.

Полученные результаты уреазной активности позволяют оценить влияние абиотических и биотических факторов на ферментативную активность буровых шламов и техногрунтов на их основе.

Выводы

На основе проведённых экспериментальных исследований по оценке биологической активности буровых шламов и техногрунтов на основе буровых шламов можно сделать следующие выводы:

1. Качественные и количественные характеристики микробиоценоза буровых шламов и техногрунтов зависят от таких абиотических факторов, как содержание ЗВ и рН. Высокие концентрации хлорид-ионов и нефтепродуктов, содержащихся в буровых шламах, оказывают ингибирующее действие на основные группы МО. При снижении концентраций ЗВ в техногрунте наблюдается развитие всех определяемых групп МО.

2. Ферментативная активность исследуемых субстратов зависит как от абиотических, так и от биотических факторов. Наличие высоких концентраций хлорид-ионов и нефтепродуктов в буровых шламах оказывает ингибирующее действие на фермент уреазу, что также связано с низкой микробной активностью буровых шламов.

3. Результаты экспериментальных исследований по изучению биологической активности техногрунтов на основе буровых шламов показали, что они обладают высокой микробиологической и уреазной активностью. Техногрунты на основе буровых шламов с добавлением торфа и органоминеральных добавок могут использоваться в качестве исходного

материала для технической и биологической рекультивации нарушенных земель.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта № FSNM-2020-0024 «Разработка научных основ экологически чистых и природоподобных технологий и рационального природопользования в области добычи и переработки углеводородного сырья».

References

1. Abdusalamova Kh.S., Dokhtukaeva A.M., Usaeva Ya.S. Influence of oil pollution on indicators of biological activity of soils // *Universum: Khimiya i biologiya: elektronny nauchny zhurnal*. 2017. No. 12 (42) [Internet resource] <http://7universum.com/ru/nature/archive/item/52962> (Accessed: 12.10.2020) (in Russian).
2. Shekhovtsova O.G. Biological activity of the urbanized soils of Mariupol // *Gruntoznaystvo*. 2011. V. 12. No. 1–2. P. 88–91 (in Russian).
3. Utobo E.B., Tewari L. Soil enzymes as bioindicators of soil ecosystem status // *Applied Ecology and Environmental Research*. 2015. V. 13 (1). P. 147–169. doi: 10.15666/aer/1301_147169
4. Baldrian P. Microbial enzyme-catalyzed processes in soils and their analysis // *Plant Soil Environmental*. 2009. No. 55 (9). P. 370–378. doi: 10.17221/134/2009-PSE
5. Dariush M.-T., Mina K.M. Crude oil-polluted soil induces ultrastructural and enzyme activity changes in the Shoot of Lentil // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 2017. V. 10. No. 1. P. 112–121.
6. Khaziev F.Kh. Functional role of enzymes in soil processes // *Vestnik Akademii nauk RB*. 2015. V. 20. No. 2. P. 14–24 (in Russian).
7. Zilberman M.V., Pichugin E.A., Khodyashev N.B., Cherepanov M.V., Shenfeld B.E. Evaluation of the influence of drill cuttings composition on hazard class for the environment // *Nauchno-tekhnicheskiy vestnik Povolzhya*. 2012. No. 2. P. 194–202 (in Russian).
8. Interim guidelines for soil pollution control. Part 2. Moskva: Moskovskoe otdelenie Gidrometeoizdata, 1984. 45 p. (in Russian).
9. Khaziev F.Kh. Methods of soil enzymology. Moskva: Nauka, 2005. 252 p. (in Russian).
10. Novoselova E.I., Kireeva N.A. Soil enzymatic activity in conditions of oil contamination and its biodiagnostic importance // *Theoretical and Applied Ecology*. 2009. No. 2. P. 4–12 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2009-2-004-012
11. Shi Z.J., Lu Y., Xu Z.G., Fu S.L. Enzyme activities of urban soils under different land use in the Shenzhen city, China // *Plant Soil Environmental*. 2008. No. 54 (8). P. 341–346. doi: 10.17221/415-PSE

12. Andersson M., Kjoller A., Struve S. Microbial enzyme activities in leaf litter, humus and mineral soil layers of European forests // *Soil Biology and Biochemistry*. 2004. No. 36. P. 1527–1537. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.07.018
13. Baldrian P. Microbial enzyme – catalyzed processes in soils and their analysis // *Plant Soil Environmental*. 2009. No. 55 (9). P. 370–378. doi: 10.17221/134/2009-PSE
14. Gafurova L.A., Saidova M.E. The influence of soil-ecological factors on the change in the enzymatic activity of saline soils of the Southern Aral region // *Nauchnoe obozrenie. Biologicheskie nauki*. 2019. No. 3. P. 5–10 [Internet resource] <https://science-biology.ru/ru/article/view?id=1153> (Accessed: 16.10.2020) (in Russian) doi: 10.17513/srbs.1153
15. Filipek-Mazur B., Tabak M., Gorczyca O. Enzymatic activity of soils exposed to transportation pollutants, located along road No. 957 // *Journal of Ecological Engineering*. 2014. V. 15. No. 4. P. 145–149. doi: 10.12911/22998993.1125469
16. Li T., Meng L., Herman U., Lu Z., Crittenden J. A survey of soil enzyme activities along major roads in Beijing: The implications for traffic corridor green space management // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2015. No. 12 (10). P. 12475–12488. doi: 10.3390/ijerph121012475
17. Rakhimova E.R., Garusov A.V., Zaripova S.K. Biological activity of oil-contaminated soil upon its salinization // *Pochvovedenie*. 2005. No. 4. P. 481–485 (in Russian).
18. Shchemelina T.N., Novoselova E.N., Kireeva N.A., Markarova M.Yu. Diagnostics of the degree of soil contamination with oil by indicators of enzymatic activity // *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2007. No. 75. P. 432–434 (in Russian).
19. Achuba F.I., Peretiemo-Clarke B.O. Effect of petroleum products on soil catalase and dehydrogenase activities // *Open Journal of Soil Science*. 2014. V. 4. No. 12. P. 399–406. doi: 10.4236/ojss.2014.412040