

УДК 632.124

БИОРЕМЕДИАЦИЯ ПОЧВ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Самоторова Анастасия Павловна

ГАУ ДО «Детский технопарк «Кванториум»

г.Брянск, Брянская область, nsam-2006@mail.ru

Аннотация: Статья посвящена проблеме загрязнения почв тяжелыми металлами, для очистки которых применялся биоремедиационный метод.

Ключевые слова: биоремедиация, цианобактерии, загрязнение.

**A.Samotorova (Russian Federation). BIOREMEDIATION OF SOILS WITH
A HIGH CONTENT OF HEAVY METALS.**

Annotation: The article is devoted to the problem of soil contamination with heavy metals, for the purification of which the bioremediation method was used.

Keywords: bioremediation, cyanobacteria, pollution.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время возросло негативное воздействие антропогенного фактора на биосферу, вследствие чего происходит активное загрязнение окружающей среды. Трудно восстанавливаемый компонент биосферы – почва [10]. По данным Организации объединенных наций (ООН), около 75% почв подверглись деградации [8].

Почвы загрязняются в большей степени, т. к. обладают способностью накапливать в себе тяжелые металлы. Сейчас проблема загрязнения почв актуальна, ведь от их качественного состава зависит плодородие, количество выращиваемых и употребляемых в пищу человеком растений, они также являются местообитанием многих живых организмов [6].

В настоящее время стали доступны методы биоремедиации почв [3]. Наиболее перспективными являются цианобактерии.

Цель: осуществить биоремедиацию почв, загрязнённых тяжёлыми металлами, с применением метаболического и адаптационного потенциала цианобактерий.

Задачи:

1. Проанализировать научную литературу по выбранной теме исследования;
2. Собрать материал для проведения лабораторно-химических исследований с целью определения содержания тяжелых металлов;
3. Культивировать цианобактерии;
4. Провести практическое исследование;
5. Проанализировать полученные данные и сделать выводы по проведенной работе.

Гипотеза: предполагается, что метод биоремедиации почв с использованием сине – зелёных водорослей позволит частично устранить загрязнение тяжёлыми металлами.

1.1. Тяжелые металлы.

Опасными химическими загрязнителями являются тяжелые металлы - химические элементы со свойствами металлов и значительным атомным весом или плотностью.

1.2. Факторы, вызывающие загрязнение почвы тяжёлыми металлами

Основные факторы, вызывающие загрязнение почвы тяжёлыми металлами:

1. Промышленные предприятия;
2. Транспорт;
3. Полигоны ТБО, свалки.

1.3. Адаптационные механизмы цианобактерий

Для очистки почв перспективно применение цианобактерий, т.к. они имеют повсеместное распространение и обладают повышенной адаптивной устойчивостью к экстремальным условиям, достигающаяся несколькими путями:

1. Интенсивное выделение внеклеточной слизи. Доля этих веществ в общем балансе клетки весьма существенна и составляет примерно 40% чистой суточной продукции фотосинтеза.
2. Наличие глутатионовой системы может быть первой линией обороны в системе защиты клеток в период, предшествующий формированию металлсвязывающих белков.

При этом биомасса цианобактерий может многократно использоваться в циклах сорбции-десорбции [4].

2. Практическая часть

2.1. Материалы и методы исследования.

Данная работа проводилась на базе ГАО ДО Брянской области «Детского технопарка «Кванториум» под руководством Антоненко Ю.А.

Качественный и количественный химический анализ почв был проведен повторно с интервалом в один год и являлся первым блоком исследования.

Отбор проб проводится в районах воздействия промышленных, хозяйственно-бытовых и транспортных источников загрязнения. Используемые инструменты должны быть тщательно очищены от ржавчины. Не следует применять оцинкованные ведра, медные изделия, эмалированные тазы, окрашенные инструменты. Пробы почв помещаются в мешочки из хлопчатобумажной ткани или пластиковые контейнеры [11].

Пробы были взяты в первой половине октября 2022 года при отсутствии снежного покрова и иных осадков в следующих точках города:

1. Брянский машиностроительный завод (БМЗ), ул. Ульянова, 26.
2. Предприятие «Бежицкая сталь», ул. Сталилитейная, 1А.
3. Участок вблизи проезжей части по улице Рылеева.
4. Участок вблизи проезжей части по улице Ульянова.
5. Полигон ТБО, ул. Молокова 104.

Методики проведения лабораторно-химических анализов, необходимых для определения содержания и концентрации тяжелых металлов, аналогичны проводившемуся годом ранее исследованию [12].

Почвенные анализы проводят с навесками почвы в воздушно-сухом состоянии. Почвы предварительно просушиваются в сухом хорошо проветриваемом помещении, не содержащем в воздухе пыли, паров кислот и аммиака. Хранение сырых образцов является недопустимым, так как в результате деятельности микроорганизмов могут изменяться химические свойства почвы.

Для определения механического состава почвы следует насыпать примерно одну столовую ложку почвенной навески в ладонь. С помощью пипетки Пастера к почве необходимо приливать воду и тщательно перемешивать воду с почвой до получения как можно более вязкого «теста». Из полученного «теста» следует скатать шарик диаметром 2-3 см и попробовать растянуть его в жгут. Из различий физических свойств сделать выводы о её механическом составе, воспользовавшись методическими материалами. Результаты исследования приведены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты исследования механического состава почв.

Образец	При скатывании	Механический состав	Составляющие
Бежицкая сталь	Не скатывается в шар, но лепится в непрочные шарики.	Супесчаный	Преобладают песчаные частицы с небольшой примесью глины
Ул. Рылеева	Образует длинный жгут, при сгибании в кольцо на нём появляются трещины	Тяжелосуглинистый	Крупные песчаные зёрна отсутствуют
Полигон ТБО	Образовывает сплошной жгут, разламывающийся при сгибании в кольцо.	Среднесуглинистый	Среди глинистых частиц заметны песчаные частицы
БМЗ	Образует непрочный шарик, в жгут не раскатывается, образует отдельные цилиндрики.	Лёгкосуглинистый	Среди глинистых частиц преобладают песчаные частицы
Ул. Ульянова	Образовывает сплошной жгут, разламывающийся при сгибании в кольцо.	Среднесуглинистый	Среди глинистых частиц заметны песчаные частицы

Исследование образцов почв на наличие и концентрацию тяжёлых металлов требуют выжимки из почвенных навесок. Методика приготовления выжимок:

1. На весах отмерить 30 г почвенной навески.
2. Перенести навеску в колбу и добавить 100 мл дистиллированной воды
3. Перемешать содержимое с помощью магнитной мешалки в течение 15 минут.
4. С помощью стеклянной воронки с бумажным фильтром отфильтровать почву от почвенной вытяжки.

Методика приготовления почвенных выжимок была взята из методического пособия «Охотник за микробами» [19].

Для выявления наличия и установления концентрации тяжёлых металлов в почвенных выжимках необходимо провести ряд качественных химических реакций на катионы тяжёлых металлов (таблица 2).

Таблица 2. Качественные реакции на тяжелые металлы.

Катион	Реакция	Признак реакции
Свинец (Pb)	$Pb^{2+} + 2I^{-} = PbI_2$	PbI ₂ - осадок ярко желтого цвета
Ртуть (Hg)	$1.Hg^{2+} + OH^{-} = Hg(OH)_2$	1Hg(OH) ₂ - желтый осадок (HgO)
Кадмий (Cd)	$Cd^{2+} + 2OH^{-} = Cd(OH)_2$	Cd(OH) ₂ - белый осадок
Хром (Cr)	$OH^{-} + Cr^{2+} = Cr(OH)_2$	Cr(OH) ₂ - коричневый аморфный осадок

Для проведения качественных реакций были использованы пробирки объемом 15 мл, спиртовка, почвенные выжимки, пипетки Пастера, реагенты (таблица 2). Изначально в проверенные лакмусовой тест-полоской индикатора пробирки наливается 3 мл почвенной выжимки, после чего туда осторожно приливают 1 мл реагента. Если реакция протекает медленно, производится её ускорение путём нагревания образца над пламенем спиртовки.

При проведении повторных анализов тяжелые металлы были выявлены в следующих образцах:

Свинец (Pb) был найден в следующих образцах: Бежицкая сталь, БМЗ, ул. Рылеева, ул. Ульянова.

Ртуть (Hg) была найдена в следующих образцах: Бежицкая сталь.

Кадмий (Cd) был найден в следующих образцах: Полигон ТБО.

Хром (Cr) был найден в следующих образцах: БМЗ.

Далее растворы с полученными осадками соединений тяжёлых металлов используются для установления их концентрации путём выпаривания. Результаты данного исследования выведены в форме таблицы.

Таблица 3. Концентрация тяжелых металлов в испытуемых образцах.

Образец	Металл	Масса осадка (г)	Содержание в г на 1 кг почвы.	Предельно допустимая концентрация в мг на 1 кг
Бежицкая сталь	Свинец (Pb)	0,043 г	4,7 г	0,01 г
	Ртуть (Hg)	0,1118 г	20 г	0,00001 г
Полигон ТБО	Кадмий (Cd)	0,058 г	11,2 г	0,0005 г
БМЗ	Свинец (Pb)	0,0194 г	21 г	0,01 г
	Хром (Cr)	0,0985 г	14,3 г	0,003 г

Ул. Рылеева	Свинец (Pb)	0,0174 г	3,105 г	0,01 г
Ул. Ульянова	Свинец (Pb)	0,0234 г	2,6 г	0,01 г

При сравнении с результатами предыдущих исследований можно сделать вывод, что содержание тяжелых металлов в почвах увеличилось. Результаты были оформлены в виде таблицы 4.

Таблица 4. Сравнительный анализ содержания тяжелых металлов.

Образец	Металл	Содержание в почве на 2021-2022 год	Содержание в почве на 2022-2023 год
Бежицкая сталь	Свинец (Pb)	1,8 г	4,7 г
	Ртуть (Hg)	15,4 г	20 г
Полигон ТБО	Кадмий (Cd)	8,1 г	11,2 г
БМЗ	Свинец (Pb)	13 г	21 г
	Хром (Cr)	2,2 г	14,3 г
Ул. Рылеева	Свинец (Pb)	1,4 г	3,105 г
Ул. Ульянова	Свинец (Pb)	1,7 г	2,6 г

Вторым этапом являлось культивирование цианобактерий. Для этого необходимо было получить чистую культуру из выведенных заранее в условиях хорошего освещения и комнатной температуры сине-зеленых водорослей, не содержащую других водорослей, бактериальных организмов и бактерий-спутников. Очистить культуру цианобактерий от вышеперечисленных микроорганизмов можно путем воздействия на них ультрафиолетовым излучением. Источником УФ-излучения служил ламинарный шкаф микробиологической безопасности «Logica». Цианеи выдерживались под ультрафиолетом в течение 30 минут при длине волны 254 нм. После ликвидации сторонних микроорганизмов проводилась проверка очищенных растворов, содержащих цианобактерии, с использованием светового микроскопа при различном увеличении.

Далее осуществлялось приготовление питательной среды. Наиболее подходящей для сине – зеленых водорослей является среда Громова № 6 следующего состава (на 100 мл воды) [7]:

Таблица 5. Состав питательной среды Громова №6.

Компоненты	Масса, г
KNO ₃	0,1

K ₂ HPO ₄	0,02
MgSO ₄ * 7 H ₂ O	0,02
CaCl ₂	0,015
NaHCO ₃	0,02
Микроэлементы	0,1
Агар	0,8
Вода водопроводная	100

Микроэлементы поступили в питательную среду за счет водопроводной воды, заранее прокипяченной и профильтрованной через ватно-марлевый фильтр.

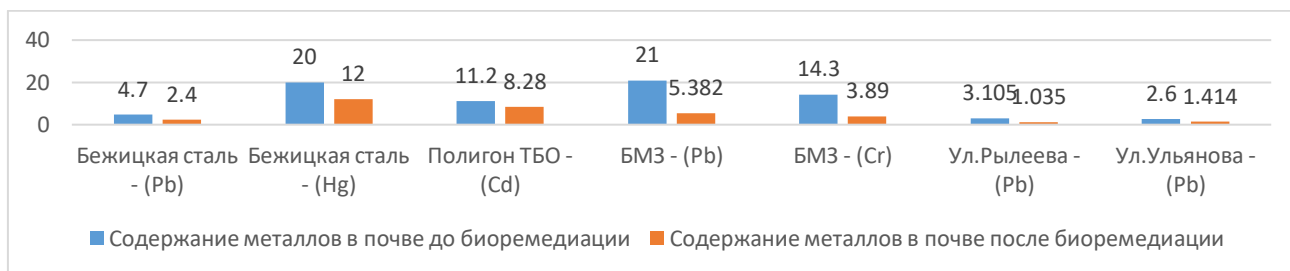
После добавления к водопроводной воде вышеуказанных соединений производилась стерилизация среды в автоклаве при 120 °С и давлении 1 атм. в течение 45 минут, затем готовая питательная среда подщелачивалась до рН 8.

Посев бактерий осуществлялся методом последовательного пересева путем внесения в стерильную полужидкую агарозную среду, содержащуюся в конической колбе на 250 мл, чистой культуры цианобактерий с использованием пипетки Пастера, после чего питательную среду с цианеями закрывали пробкой, изготовленной из стерильной ваты и марли для обеспечения доступа кислорода внутрь колбы. Далее среда находилась на протяжении 7 суток под непрерывным освещением люминесцентными лампами при 25°С. Каждый день среда подвергалась перемешиванию в течение 5 минут для обеспечения дыхания бактерий. В результате была получена культура нитчатых и сферических форм цианобактерий.

Третьим этапом исследования было осуществление биоремедиации почвенных выжимок, содержащих тяжелые металлы, с использованием культивированных цианобактерий. Для этого в пробирки на 15 мл производилось внесение пипеткой Пастера 2 мл почвенной выжимки с последующим добавлением к ней 2 мл полужидкой агарозной среды, содержащей сине – зеленые водоросли, после чего данные растворы оставлялись в пробирках на 1 неделю при условиях достаточного освещения и температуры не ниже 25°С.

Далее был проведен ряд повторных качественных реакций на катионы тяжелых металлов. На данном шаге производилось приливание 1 мл реагента (Таблица 2) к полученным растворам с их последующим выпариванием для установления концентрации тяжелых металлов. Полученные результаты представлены в форме диаграммы.

Диаграмма 1. Содержание тяжелых металлов после биоремедиации.



Заключение

В ходе проведенных лабораторно-химических анализов было выявлено повышенное содержание тяжелых металлов, таких как свинец, ртуть, кадмий, хром, в почвах, располагающихся вблизи точек загрязнения окружающей среды г. Брянска. Для их очитки применялся биоремедиационный метод, для которого необходимым являлось использование цианобактерий, выведенных в лаборатории на питательной среде Громова №6. В ходе проведения повторных лабораторно-химических анализов наблюдалось снижение концентрации тяжелых металлов: содержание свинца (Pb) в образце БМЗ уменьшилось на 74,34%; содержание свинца (Pb) в образце Бежицкая сталь уменьшилось на 48,94%; содержание свинца (Pb) в образце ул. Рылеева уменьшилось на 66,67%; содержание свинца (Pb) в образце ул. Ульянова уменьшилось на 45,62%; содержание ртути (Hg) в образце Бежицкая сталь уменьшилось на 40,1%; содержание кадмия (Cd) в образце полигон ТБО уменьшилось на 26,07%; содержания хрома (Cr) в образце БМЗ уменьшилось на 72,8%.

Список использованной литературы

1. Брянск – промышленность города, предприятия и заводы Брянска [Электронный ресурс]

<https://metaprom.ru/regions/bryansk.html>

2. Биоремедиация [Электронный ресурс]
<https://ru.m.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B8%D0%BE%D1%80%D0%B5%D0%BC%D0%B5%D0%B4%D0%B8%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F>
3. Биоремедиация почв [Электронный ресурс]
<https://studfile.net/preview/5865387/page:21/>
4. Биология цианобактерий [Электронный ресурс]
<http://iweb.vyatsu.ru/document/material/49/06.04.01>
5. Всероссийское общество охраны природы [Электронный ресурс]
<https://voop-rf.ru/>
6. Глава 1. Глобальные последствия влияния человека на биосферу [Электронный ресурс]
<https://studfile.net/preview/8953447/page:3/>
7. Культивирование микроскопических зеленых водорослей и цианобактерий коллекции CALU СПбГУ [Электронный ресурс]
<https://researchpark.spbu.ru/methods-km-rus/233-metodiki-km1-rus/2357-km-meth-04>
8. Организация Объединенных наций [Электронный ресурс]
<https://www.un.org/ru/>
9. Охотник за микробами. Методические рекомендации и инструкции. Книга 1. С. 25
10. У каждого четвертого жителя Брянска есть своя машина – горадминистрация [Электронный ресурс] <https://gorodbryansk.info/2019/05/auto-11/>
11. Химический анализ почв. Методические указания для проведения лабораторных занятий [Электронный ресурс]
Luganskaya_V.D.,_Luganskii_V.N._ Himicheskii_analyz_pochv.pdf (usfeu.ru);
<https://docs.cntd.ru/document/1200078918>
12. 77-е Дни науки НИТУ «МИСИС». Сборник тезисов дней науки. международные, межвузовские и институтские научно-технические конференции. Книга 3. С. 1291