

УДК: 57.084.1: 504.054

DOI: 10.18522/2308-9709-2025-52-6

Биотестирование нефтезагрязненных почв после ремедиации природным сорбентом – хитозаном

Гаршин М.В.^{1,2}, Храмцова Л.А.¹, Сулейманов Р.Р.^{2,3}

¹ООО «РН-БашНИПИнефть», Уфа, Россия; garshinmv@bnipi.rosneft.ru

²Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН, Уфа, Россия

³Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Россия

Аннотация

Использование биологических адсорбентов представляет собой перспективный вариант рекультивации нефтезагрязненных почв, так как совмещает в себе экологическую безопасность и относительную дешевизну применения. В данной статье приведены результаты биотестирования нефтезагрязненных почв после ремедиации природным сорбентом – хитозаном. Показано, что образцы, загрязненные нефтью, проявляют стимулирующий эффект на всхожесть семян, однако остальные морфологические признаки свидетельствуют о токсическом воздействии. После применения раствора хитозана не наблюдается взрывной динамики всхожести семян как на загрязненном образце. Однако общий процент всхожести семян выше, чем в остальных исследуемых образцах. Так же динамика высоты надземной части растения выше, чем в загрязненной почве, аналогичный результат с длиной корневой системы. Таким образом, проявляется снижение токсического воздействия на растения при использовании биоадсорбента.

Ключевые слова: загрязнение нефтью; хитозан; ремедиация, рекультивация, токсичность, серая лесная почва.

Biotesting of oil-contaminated soils after remediation with a natural sorbent

Garshin M.V.^{1,2}, Khramtsova L.A.¹, Suleymanov R.R.²

¹ «RN-BashNIPIneft» LLC, Ufa, Russia

² Ufa Institute of Biology, UFIC RAS, Ufa, Russia

³ Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia

Abstract

The use of biological adsorbents is a promising option for the reclamation of oil-contaminated soils, as they combine environmental safety and relative cheapness of use. This article presents the results of biotesting of oil-contaminated soils after remediation with a natural sorbent, chitosan. It has been shown that samples contaminated with oil exhibit a stimulating effect on seed germination, but other morphological signs indicate toxic effects. After applying the chitosan solution, there is no explosive dynamics of seed germination as in the contaminated sample. However, the total percentage of germination of seeds is higher than in the rest of the studied samples. The dynamics of the height of the aboveground part of the plant is also higher than in polluted soil, with a similar result with the length of the root system. Thus, there is a decrease in the toxic effect of bioadsorbent on plants.

Keywords: oil pollution; chitosan; remediation, reclamation, toxicity, gray forest soil.

Введение. В глобальном масштабе разливы нефти являются наиболее значительной экологической угрозой, возникающей в результате деятельности нефтегазового сектора. Зафиксированных случаев разливов нефти на суше больше, чем в воде (Ivshina et al., 2015). Это приводит к негативному воздействию нефтяных углеводородов на сельскохозяйственные культуры (Yavari et al., 2015), что, в свою очередь, вызывает как острые, так и хронические последствия для сельскохозяйственной продукции. Загрязнение сырой нефтью создает значительные проблемы для здоровья почвы, а именно: снижает прочность, проницаемость, повышает сухость и изменяет содержание влаги (Salimnezhad et al., 2021). Присутствие нефти в почвенной среде существенно влияет на физико-химические характеристики почвы и, как следствие, влечет снижение плодородия, что приводит к снижению урожайности сельскохозяйственных культур (Tripathi et al., 2024).

Токсичность нефти для людей и животных в сочетании с медленной скоростью естественного разложения привели к росту интереса в исследовании эффективных методов рекультивации (Dean, 1985; McKee and White, 2013).

Чаще всего рекультивация основана либо на обработке *ex-situ* (выемка грунта), либо на рекультивации *in-situ* (на месте). Из-за непомерно высокой стоимости и воздействия на окружающую среду традиционных стратегий

большая часть загрязненных участков либо остается как есть, либо их реабилитация откладывается. Таким образом, требуются, более дешевые и экологически безопасные альтернативы. Кроме того, восстановление загрязненных участков до их естественного состояния и превращение загрязненных почв в экологически и геохимически пригодную среду требуют применения комплексных методов рекультивации (Moses et al., 2024).

Методы рекультивации с использованием биологических сорбентов считаются эффективной и доступной «зеленой технологией» для реабилитации почв, загрязненных нефтяными углеводородами (Доскина и др. 2017; Утомбаева и др. 2023; Хайретдинова и др. 2024).

Природные сорбенты широкодоступны и имеют ряд существенных преимуществ, а именно: относительную дешевизну и экологическую безопасность. Более того, само вещество разлагается естественным образом, обеспечивая дополнительные преимущества для окружающей среды (Vasilyeva et al., 2022).

Перспективным природным сорбентом является хитозан. Данный сорбент заинтересовал многих исследователей в использовании его в качестве биоадсорбента (Ань и др. 2019; Кастерина и др. 2015; Кокорина и др. 2013; Куен и др. 2019; Гаршин и др., 2024). Он является нетоксичным, поликатионным полимером, получаемым путем деацетилирования хитина с использованием нескольких методов получения его производных. Поликатионная природа хитозана и его производных открывает им огромные перспективы в качестве адсорбентов благодаря их необычным и разнообразным свойствам биосовместимости, биоразлагаемости, безопасности и химической универсальности. Таким образом, он очень полезен в экологической реабилитации загрязненных сред (Issahaku et al., 2023).

Целью исследования является биотестирование нефтезагрязненных почв после ремедиации природным сорбентом – хитозаном.

Материалы и методы

Исследования проводили в лабораторных условиях с серой лесной почвой (Классификация ..., 1977). Используемый почвенный образец серой лесной почвы характеризуется нейтральной кислотностью (контроль – 6,7рН, загрязненная нефтью и с добавлением хитозана – 6,3 рН); ёмкость катионного обмена составляет 26,9 ммоль (экв)/100 г, степень насыщенности основаниями – 79,1%, сумма фракций менее 0,01 мм – 28,7%, содержание гумуса – 2,8%; полная влагоёмкость – 49% (Гаршин и др., 2024).

При биотестировании почв применялся метод проростков (использовались семена универсального индикатора – кресс-салата *Lepidium sativum*). Этот метод позволяет выявлять токсичное (ингибирующее) или стимулирующее действие тех или иных веществ на тест-культуры (Воеводина и др. 2015; Eze et al., 2021).

Пробу серой лесной почвы довели до воздушно-сухого состояния. Измельчили почвы на грунтовой мельнице, просеяли через сито с размером ячеек 2 мм. Отобрали навески в чашки Петри по 50 грамм. После загрязнения нефтепродуктами выдерживали в течение 1 суток. Наносили 0,2% раствор хитозана в 0,05% растворе уксусной кислоты объемом 10 мл на каждую чашку с образцами № 7, 8, 9. Образцы № 7, 8, 9 после пропитки предварительно перемешали, так как раствор хитозана в уксусной кислоте распределялся неравномерно по всей поверхности. Выдерживали еще 2 суток в закрытом виде. В каждую чашку помещали семена кресс-салата в количестве 30 штук (рис.1). Увлажнили почву 20 мл дистиллированной воды.

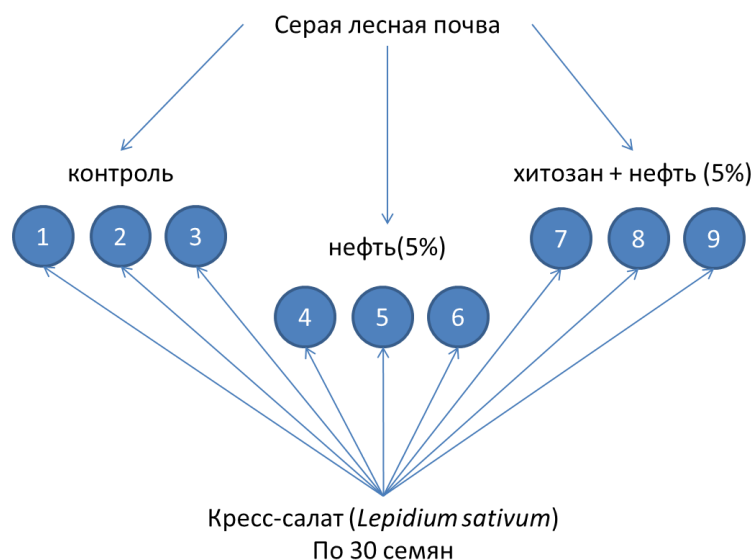


Рис.1 – Схема эксперимента

Результаты и обсуждение

Прорастание семян наблюдается на пятые сутки после посева во всех вариантах опыта и не превышает 20 % всхожести семян.

На шестые сутки (Рис. 2) происходит активное прорастание в образцах с присутствием нефти (№ 4, 5, 6), всхожесть семян выросла до 40 %, в остальных образцах так же менее 20 %. Стимулирующий эффект может выражаться при слабых загрязнениях нефти (Хазиев, 2012). Данный эффект проявляется до седьмых суток, а далее происходит умеренное появление всходов, что говорит о затухании данного эффекта. Начиная с одиннадцатых суток и до завершения эксперимента, процент всхожести семян в образцах с присутствием нефти (№ 4, 5, 6) составил 61 % (Рис. 3).

В образцах с присутствием нефти и обработанных хитозаном (№ 7, 8, 9) после седьмых суток происходит равномерное увеличение всходов. 40 %-ная всхожесть наблюдается на девятые сутки. В данном варианте не наблюдается взрывной всхожести, однако, по сравнению с контролем, можно констатировать, что небольшие концентрации нефти тоже дали стимулирующий эффект. На четырнадцатые сутки по завершению эксперимента всхожесть составила 71 % (Рис. 3).

В образцах с чистой почвой (№ 1, 2, 3) наблюдается равномерное прорастание и самый низкий процент всхожести на протяжении всего наблюдения. На четырнадцатые сутки всхожесть составила 39% (Рис. 3).

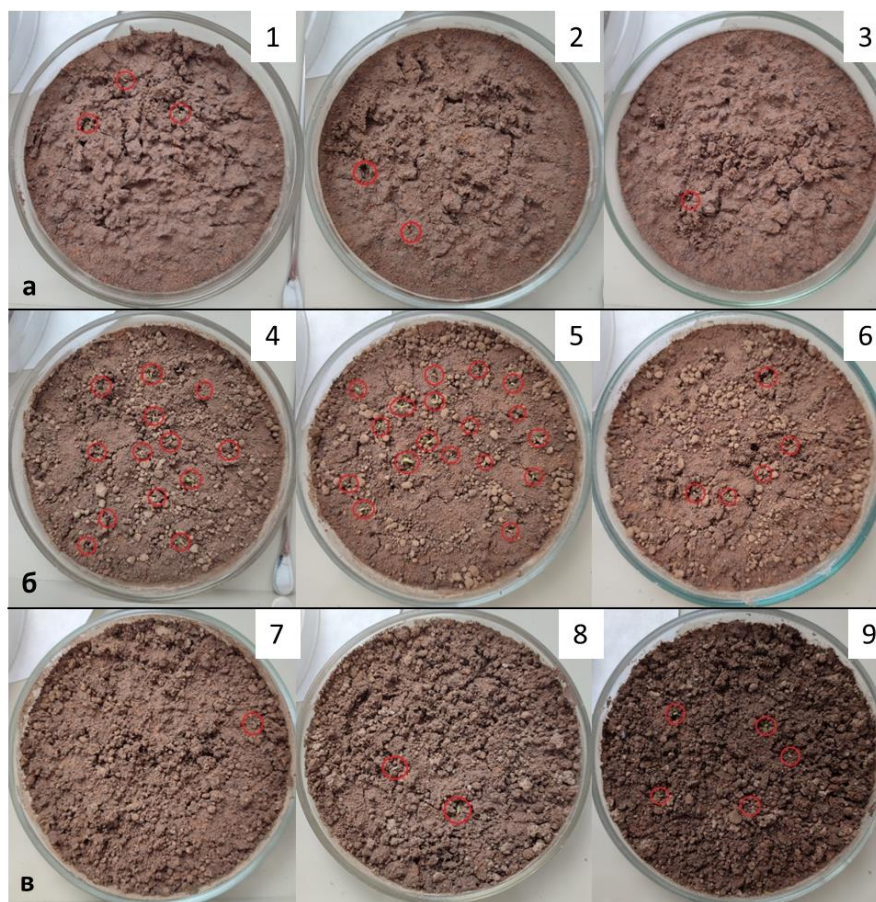


Рис. 2 – Фото проростков на шестые сутки а) Образцы № 1-3, чистая почва, контроль; б) Образцы № 4-6, загрязненная нефтью почва; в) Образцы № 7-9, загрязненная нефтью почва, обработанная раствором хитозана.

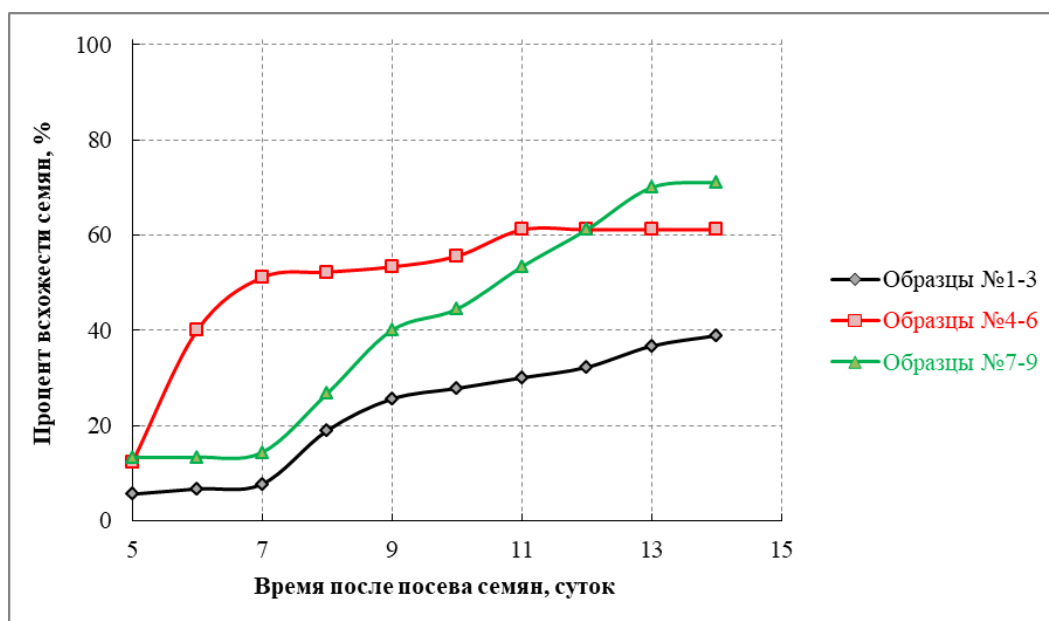


Рис.3 – Динамика всхожести семян: а) Образцы № 1-3, чистая почва, контроль; б) Образцы № 4-6, загрязненная нефтью почва; в) Образцы № 7-9, загрязненная нефтью почва, обработанная раствором хитозана.

Однако, при оценке динамики средней высоты надземной части растений варианты образцов, загрязненные нефтью, проявляют ингибирующий эффект на высоту растений. Уже на девятые сутки образцы №1-3 выше образцов №4-6 на 24%, и образцов №7-9 – на 12%. При этом процент всхожести составляет 27 %, 40 % и 52 % соответственно. Далее высота растений в незагрязненных образцах только увеличивается, и на четырнадцатые сутки образцы №1-3 выше образцов №4-6 на 39%, и образцов №7-9 – на 33% (Рис. 4).

Также оценка длины корней (таблица 1) показывает их подавление в образцах, загрязненных нефтью, – средняя их длина составляет 7 мм. В чистой почве длина корней в среднем составила 30 мм, а в образцах, обработанных хитозаном, – 26 мм.

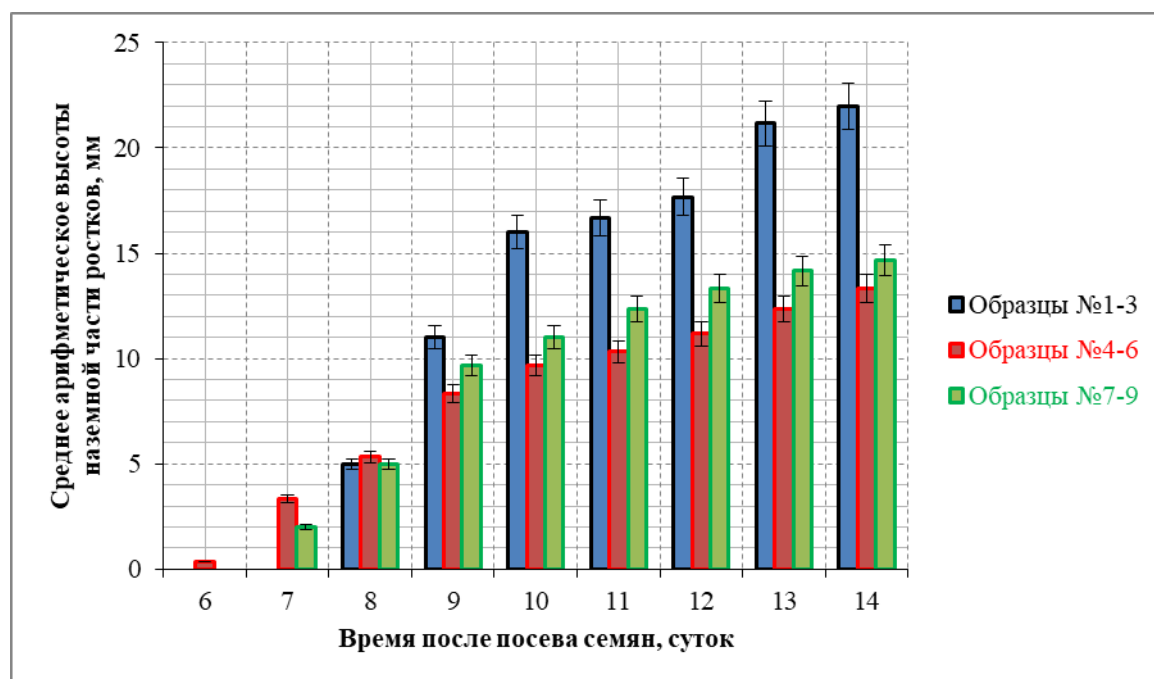


Рис.4 – Динамика высоты надземной части растений: а) Образцы № 1-3, чистая почва, контроль; б) Образцы № 4-6, загрязненная нефтью почва; в) Образцы № 7-9, загрязненная нефтью почва, обработанная раствором хитозана.

Таблица 1 – Длина корней

Вариант образцов	Длина корней, мм		
	Минимальная	Средняя	Максимальная
Чистая почва	3	30	105
Загрязненная нефтью почва	2	7	60
Загрязненная нефтью почва + хитозан	2	26	95

Между тем, в вышеперечисленных результатах прослеживается положительная динамика при использовании хитозана, а именно: конечная всхожесть семян выше, чем в контроле и в загрязненной почве; динамика средней высоты растений выше, чем в загрязненной почве; длина корней больше, чем в загрязненной почве.

Заключение

По результатам проведенных исследований выявлено, что нефтезагрязненные образцы проявляют стимулирующий эффект на всхожесть семян кресс-салата. Однако, при оценке морфологических признаков растений установлено уменьшение высоты проростков и длины корней по сравнению с контролем и образцами, обработанными хитозаном. Лучшую всхожесть показывают обработанные хитозаном образцы. Также свойства биоадсорбента проявляются в снижении токсического эффекта нефти, негативно влияющего на морфологические признаки растений.

Биотестирование нефтезагрязненных почв после ремедиации природным сорбентом показало положительную корреляционную связь между применением биоадсорбента и повышением динамики всхожести и высоты надземной части растений по сравнению с загрязненной почвой.

Полученные данные подтверждают высокую эффективность использования хитозана для ремедиации нефтезагрязненных почв, что создает основу для широкого практического применения данной технологии. Результаты исследований формируют научную базу для дальнейшего изучения процессов ремедиации, включая разработку новых биопрепаратов и улучшение существующих технологий.

Так же необходимо проводить дальнейшие исследования, направленные на изучение влияния хитозана на разные типы почв, взаимодействие с различными штаммами микроорганизмов и оптимизацию условий применения препарата.

Таким образом, полученные результаты создают прочную платформу для активного внедрения биотехнологических подходов к очищению нефтезагрязненных почв с использованием хитозана, что положительно скажется на охране окружающей среды и экономике регионов.

Список литературы

1. Ань К.Т.К., Фазылова Д.И., Назирова А.А., Зенитова Л.А., Янов В.В. Экологически безопасный сорбент для ликвидации последствий разлива нефти // Экология и промышленность России. 2019. № 5. С. 37 - 41.
2. Воеводина Т.С., Русанов А.М., Сулейманов Р.Р. Оценка фитотоксичности и уровня химического загрязнения почв придорожных территорий г. Оренбурга // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. 2015. № 3 (35). С. 9-13.
3. Гаршин М.В., Храмцова Л.А., Сулейманов Р.Р. Оценка гидрофобных свойств нефтезагрязнённых почв методом водяного пятна (метод «Water Spot») // Почвы и окружающая среда. 2024. Том 7. № X. e273. DOI: 10.31251/pos.vXiX.XX.
4. Доскина Э.П., Москвичева Е.В., Войтюк А.А., Игнаткина Д.О. Использование отработанного селективного сорбента для рекультивации нефтезагрязнённых почв // Вестник Волгоградского государственного архитектурно-строительного университета. Серия: Строительство и архитектура. 2017. № 49 (68). С. 134-143.
5. Кастерина Н.Г., Околелова А.А. Детоксикация нефтезагрязнённых почв хитозаном и его трансформация // Biogeosystem Technique. 2015. V. 5. No. 3. P. 286–297. DOI: <https://doi.org/10.13187/bgt.2015.5.286>
6. Классификация и диагностика почв СССР / Составители: В.В. Егоров, В.М. Фридланд, Е.Н. Иванова, Н.Н. Розова, В.А. Носин, Т.А. Фриев. Москва: Колос, 1977. 224 с.
7. Кокорина Н.Г., Околелова А.А., Голованчиков А.Б. Новый способ детоксикации нефтезагрязнённых почв хитозаном // Почвоведение. 2013. № 12. С. 1516–1522. DOI: <https://doi.org/10.7868/S0032180X1312006X>
8. Куен Т.К.А., Зенитова Л.А. Хитозан содержащие пенополиуретаны в качестве поглотителей нефтеразливов // Вестник Пермского

- национального исследовательского политехнического университета. Химическая технология и биотехнология. 2019. № 2. С. 7-21.
9. Утомбаева А.А., Кузнецова Т.В., Вершинин А.А., Зайнулгабидинов Э.Р., Петров А.М. Эффективность применения осадка городских сточных вод при рекультивации нефтезагрязненной серой лесной почвы // Вестник Нижневартовского государственного университета. 2023. № 3 (63). С. 113-126. DOI: <https://doi.org/10.36906/2311-4444/23-3/10>
 10. Хайретдинова В.Р., Нафикова Э.В., Александров Д.В. Совершенствование методов рекультивации нефтезагрязненных почв с применением биоугля и микоризы // Экологический Вестник Северного Кавказа. 2024. Т. 20. № 2. С. 69-72.
 11. Хазиев Ф.Х. Экология почв Башкортостан / Ф.Х Хазиев. – Уфа: АН РБ, Гилем. 2012. – 312с.
 12. Vasilyeva G., Mikhedova E., Zinnatshina L., Strijakova E., Akhmetov L., Sushkova S., Ortega-Calvo J. Use of natural sorbents for accelerated bioremediation of grey forest soil contaminated with crude oil // Science of The Total Environment. V. 850, 2022, P. 157952, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157952>.
 13. Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivoruchko A.V., Elkin A.A., Makarov S.O., Cunningham C.J., Peshkur T.A., Atlas R.M., Philp J.C. Oil spill problems and sustainable response strategies through new technologies // Environmental Sciences: Processes and Impacts. 2015. V. 17. № 7. P. 1201-1219.
 14. Issahaku I., Tetteh I.K., Tetteh A.Y., Chitosan and chitosan derivatives: Recent advancements in production and applications in environmental remediation // Environmental Advances. 2023. V. 11. p. 2666-7657. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2023.100351>.
 15. Salimnezhad A., Soltani-Jigheh H., Soorki A. A., Effects of oil contamination and bioremediation on geotechnical properties of highly plastic clayey soil //

- Journal of Rock Mechanics and Geotechnical Engineering, V. 13, № 3, 2021, P. 653-670, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jrmge.2020.11.011>.
16. Tripathi V., Gaur V.K., Kaur I., Srivastava P.K., Manickam N., Unlocking bioremediation potential for site restoration: A comprehensive approach for crude oil degradation in agricultural soil and phytotoxicity assessment // Journal of Environmental Management, V. 355, 2024, P. 120508. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120508>.
 17. Eze M.O., George S.C., Hose G.C., Dose-response analysis of diesel fuel phytotoxicity on selected plant species // Chemosphere, V. 263, 2021, P. 128382, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128382>.
 18. Moses H., Odigure J.O., Otaru A.J., Ecotoxicological assessment of nano-remediated crude oil contaminated soil using Zea mays // Results in Engineering, V. 23, 2024, P. 102612, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2024.102612>.
 19. Yavari, S., Malakahmad, A., Sapari, N.B. A Review on Phytoremediation of Crude Oil Spills // Water Air and Soil Pollution. 2015. V. 226. P. 1-18. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2550-z>

References

1. An K.T.K., Fazylova D.I., Nazirova A.A., Zenitova L.A., Yanov V.V. Environmentally safe sorbent for oil spill response // Ecology and industry of Russia. 2019. No. 5. pp. 37-41.
2. Voevodina T.S., Rusanov A.M., Suleymanov R.R. Assessment of phytotoxicity and level of chemical contamination of soils of roadside territories of Orenburg // Bulletin of the Bashkir State Agrarian University. 2015. No. 3 (35). pp. 9-13.
3. Garshin M.V., Khramtsova L.A., Suleymanov R.R. Assessment of hydrophobic properties of oil-contaminated soils by the water spot method //

- Soils and the environment. 2024. Volume 7. No. X. e273. DOI: 10.31251/item vXiX.XX.
4. Doskina E.P., Moskvicheva E.V., Voityuk A.A., Ignatkina D.O. The use of spent selective sorbent for reclamation of oil-contaminated soils // Bulletin of the Volgograd State University of Architecture and Civil Engineering. Series: Construction and Architecture. 2017. No. 49 (68). pp. 134-143.
 5. Kasterina N.G., Okolelova A.A. Detoxification of oil-contaminated soils with chitosan and its transformation // Biogeosystem engineering. 2015. V. 5. Number 3. p. 286-297. DOI: <https://doi.org/10.13187/bgt.2015.5.286>
 6. Classification and diagnostics of soils of the USSR / Compiled by: V.V. Egorov, V.M. Friedland, E.N. Ivanova, N.N. Rozova, V.A. Nosin, T.A. Frieв. Moscow: Kolos Publ., 1977. 224 p.
 7. Kokorina N.G., Okolelova A.A., Golovanchikov A.B. A new method of detoxification of oil-contaminated soils with chitosan. 2013. No. 12. pp. 1516-1522. DOI: <https://doi.org/10.7868/S0032180X1312006X>
 8. Kuen T.K.A., Zenitova L.A. Chitosan containing polyurethane foams as oil spill absorbers // Bulletin of Perm National Research Polytechnic University. Chemical technology and biotechnology. 2019. No. 2. pp. 7-21.
 9. Ustrybayeva A.A., Kuznetsova T.V., Vershinin A.A., Zainulgabidinov E.R., Petrov A.M. The effectiveness of using urban wastewater sludge in the reclamation of oil-contaminated gray forest soil // Bulletin of Nizhnevartovsk State University. 2023. No. 3 (63). pp. 113-126. DOI: <https://doi.org/10.36906/2311-4444/23-3/10>
 10. Khayretdinova V.R., Nafikova E.V., Alexandrov D.V. Improvement of methods of recultivation of oil-polluted soils using biochar and mycorrhiza // Ecological Bulletin of the North Caucasus. 2024. Vol. 20. No. 2. pp. 69-72.
 11. Khaziev F.H. Ecology of soils of Bashkortostan / F.H. Khaziev. Ufa: Academy of Sciences of the Republic of Belarus, Gilem. 2012. – 312s.

12. Vasilyeva G., Mikhedova E., Zinnatshina L., Strizhakova E., Akhmetov L., Sushkova S., Ortega-Calvo H. The use of natural sorbents for accelerated bioremediation of gray forest soil contaminated with crude oil // *Environmental Science in general*. vol. 850, 2022, p. 157952, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157952> .
13. Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivoruchko A.V., Elkin A.A., Makarov S.O., Cunningham K.J., Peshkur T.A., Atlas R.M., Philp J.S. Problems of oil spills and strategies for sustainable response to them using new technologies // *Environmental Sciences: processes and impacts*. 2015. Vol. 17. No. 7. pp. 1201-1219.
14. Issahaku I., Tette I.K., Tette A.Y. Chitosan and its derivatives: recent advances in production and application for environmental restoration // *Achievements in the field of environmental protection*. 2023. Vol. 11. pp. 2666-7657. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2023.100351>.
15. Salimnejad A., Soltani-Dzhigeh H., Surki A. A., The influence of oil pollution and bioremediation on the geotechnical properties of highly plastic clay soils // *Journal of Rock Mechanics and Geotechnical Engineering*, vol. 13, No. 3, 2021, pp. 653-670, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jrmge.2020.11.011> .
16. Tripathi V., Gaur V.K., Kaur I., Srivastava P.K., Manikam N., Unlocking the potential of bioremediation for site restoration: an integrated approach to assessing crude oil degradation in agricultural soils and phytotoxicity // *Journal of Environmental Management*, Vol. 355, 2024, p. 120508. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120508>
17. Ez M.O., George S.S., Hawes G.S., Analysis of phytotoxicity of diesel fuel depending on the dose for certain plant species // *Chemosphere*, V. 263, 2021, p. 128382, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128382> .
18. Moses H., Odigure J.O., Otaru A.J., Ecotoxicological assessment of oil-contaminated soil subjected to nanotechnological remediation using *Zea mays*

// *Engineering Results*, vol. 23, 2024, p. 102612, DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.rineng.2024.102612>

19. Yavari S., Malakakhmad A., Sapari N.B. Review on phytoremediation of crude oil spills // *Pollution of water, air and soil*. 2015. Vol. 226. pp. 1-18.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2550-z>

Статья поступила в редакцию 3 июня 2025 г.

Поступила после доработки 6 июня 2025 г.

Принята к печати 19 июня 2025 г.

Received June 6, 2025

Revised June 6, 2025

Accepted June 19, 2025