

Применение методов статистического анализа для определения безопасного содержания нефтепродуктов в серой лесной почве

Л. Г. АХМЕТЗЯНОВА, А. А. САВЕЛЬЕВ, С. Ю. СЕЛИВАНОВСКАЯ

ФГАУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
420008, Республика Татарстан, Казань, ул. Кремлевская, 18
E-mail: leisan-ksu@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Представлен алгоритм выявления безопасного для растений и микроорганизмов содержания нефтепродуктов в почве, подвергнутой рекультивации. Алгоритм включает лабораторное моделирование рекультивации почвенных образцов, содержащих различное количество нефтепродуктов, определение в этих образцах биологических параметров, интегрально характеризующих почвенное состояние, и анализ результатов на основе статистики отношения шансов, что позволяет определить содержание нефтепродуктов, начиная с которого состояние нефтезагрязненной почвы достоверно не отличается от контрольной.

Ключевые слова: нефтяное загрязнение почвы, рекультивация, фитотоксичность, математическое моделирование.

Углеводороды нефти являются широко распространенными промышленными поллютантами, поступающими в окружающую среду вследствие нефтяных разливов при добыче, транспортировке и хранении нефти. В технологии очистки почвы от нефтяного загрязнения активно развиваются направления, использующие биологические методы. Однако до сих пор остаточное содержание нефтепродуктов, достижение которого позволяло бы завершить процесс рекультивации, не определено. При этом большинство исследований для оценки эффективности рекультивации и заключения об остаточной токсичности нефтепродуктов основываются на химическом анализе содержания нефтепродуктов в почве, например, методом газовой хроматографии, масс-спектрометрии [1]. Но снижение концентрации поллютантов в почве не всегда означает снижение токсичности за-

грязненной почвы [2]. Более того, неполная деградация нефти и формирование промежуточных продуктов трансформации, образующихся на различных этапах рекультивации почв, могут вызвать увеличение токсичности почвы [3, 4]. Поэтому для оценки эффективности рекультивации в настоящее время рекомендуется сочетание химико-аналитических и биологических исследований. Именно совокупность ответных реакций почвенного сообщества на антропогенный фактор может дать адекватную картину состояния почвы [5, 6].

По мнению ряда авторов, для построения научно обоснованных рекомендаций по восстановлению почв рекомендуется проводить математическое моделирование функционирования биологических объектов почвы. Ранее для описания процессов самоочищения почвы, изменения индивидуальных параметров, а также интегральной оценки экологи-

ческого состояния почв при нефтяном загрязнении использовали параметрические модели на основе дифференциальных уравнений [7–10]. Для анализа и интерпретации данных, полученных в рамках экотоксикологических исследований, применение находят и непараметрические статистические методы анализа [11–13].

Цель данной работы – выявление с применением методов статистического анализа безопасного для растений и микроорганизмов остаточного содержания нефтепродуктов в серой лесной почве, подвергнутой рекультивации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали серую лесную почву, отобранную на фоновой территории Лаишевского района Республики Татарстан. Для создания модельных образцов нефтезагрязненной серой лесной почвы проводили загрязнение почвы товарной нефтью в дозе 1, 2, 3, 10 и 15 % от массы почвы. Товарную нефть отбирали на установке предварительного сброса “Бастрык” Нефтегазодобывающего управления “Прикамнефть” ОАО “Татнефть”. Контролем служила незагрязненная почва. Для каждого из вариантов загрязнения почвы проводили лабораторное моделирование процесса рекультивации. В качестве рекультивационных приемов использовали внесение: а) азотного удобрения (мочевина) с опилками, б) органического удобрения перегноя (зрелый одногодичный навоз), в) промышленного биопрепарата “Деворойл”, а также г) рыхление почвы. Дозы внесения минеральных и органических азотных удобрений в нефтезагрязненные почвенные образцы рассчитаны по ВРД 39-1.13-056-2002 [14]. Количество вносимого биопрепарата “Деворойл” определяли согласно руководству по применению. Почвенные образцы отбирали в процессе лабораторного моделирования рекультивации в течение 7 мес. со дня загрязнения. Моделирование каждого из вариантов проводили трижды.

Содержание нефтепродуктов в почве определяли методом ИК-спектроскопии [15]. Фитотоксичность почвы определяли по длине второго листа, высоте наземной части рас-

тений и фитомассе по сухому веществу в соответствии с ГОСТ [16]. Для характеристики почвенного микробного сообщества определяли респираторную активность, суммарную микробную биомассу [17], дегидрогеназную, уреазную активность [18]. Измерение всех параметров проводили не менее чем в трехкратной повторности.

Для построения расширенной выборки результатов эксперимента использовали метод рандомизации. Для описания нелинейности изменения показателей во времени использовали нелинейные обобщенные аддитивные модели (generalized additive models, GAM), реализованные в пакете mgcv [19]. Алгоритм выявления значений содержания нефтепродуктов, не оказывающего негативного влияния, реализован в виде программы в среде статистической системы R [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При определении безопасного остаточного содержания нефтепродуктов в почве, подвергнутой рекультивации, исходили из стабилизации микробного сообщества и уровня фитотоксичности, который достоверно не отличался от такового почвы, не загрязненной углеводородами. Для того чтобы определить безопасное содержание нефтепродуктов, получили большое количество образцов, различающихся по содержанию нефтепродуктов и биологической активности, а также по составу нефтепродуктов. При моделировании использовали почвы с разным исходным содержанием нефтепродуктов, а также применяли различные способы их рекультивации. Лабораторное моделирование процессов рекультивации осуществляли на протяжении 7 мес., в течение которых отбирали образцы, в которых определяли содержание нефтепродуктов, респираторную, дегидрогеназную, уреазную активность, общую микробную биомассу, фитомассу по сухому веществу, длину второго листа и надземной части тест-растений. Указанные параметры выбраны как наиболее часто рекомендуемые для анализа почв, загрязненных нефтепродуктами, и адекватно отражающие ее состояние [3, 6, 21–24]. Результаты представлены в работе Ахметзяновой с соавторами [25]. Всего

отобрано и проанализировано 1080 образцов. Для определения безопасного содержания нефтепродуктов, которое может быть применено при реализации рекультивации в полевых условиях, следовало установить зависимость, связывающую содержание нефтепродуктов и параметр, отражающий соотношение значений биологических параметров в загрязненном (опыт) и фоновом (контроль) образцах. Исходя из того, что в полевых условиях природные факторы оказывают влияние одновременно на организмы загрязненных и фоновых участков, применение указанного подхода, базирующегося на использовании относительных величин, позволяет считать значения безопасного содержания нефтепродуктов в почве приемлемыми и для полевых условий.

Для установления безопасного содержания на основе полученных эмпирических данных на следующем этапе строили модели изменения во времени содержания нефтепродуктов, значений параметров состояния почвенного микробного сообщества и уровня фитотоксичности. В качестве примера на рис. 1 представлены модели поведения анализируемых параметров для варианта с 3 % загрязнением и применением “Деворойла”.

Используя данные, полученные для каждого параметра модели в каждый конкретный момент времени, проверяли статистическую гипотезу о том, что значения, полученные в опыте, отличаются от контроля не чаще, чем значения контроля между собой, что позволяет говорить об отсутствии влияния нефтепродуктов.

Для этого применяли статистику отношения шансов (OR). OR вычисляли по формуле

$$OR = (n_{11}/n_{12})/(n_{21}/n_{22}),$$

где n_{11} и n_{12} – количество результатов измерений в опыте, существенно и не существенно отличающихся от контроля; n_{21} и n_{22} – количество результатов измерений в контроле, существенно и не существенно отличающихся друг от друга.

На следующем этапе значения статистики OR , а именно левой границы доверительного интервала OR , полученные при проверке принятой гипотезы, соотносились с фактическим содержанием нефтепродуктов в опытном варианте в каждый момент времени.

Далее в предположении, что при отсутствии влияния нефтепродуктов различия отсутствуют одновременно для всех наблюдаемых параметров, полученные значения OR объединяются и считаются выборкой из одной совокупности, для которой строится модель положения статистики OR по отношению к критическому значению указанной гипотезы в зависимости от концентрации нефтепродуктов. Так, если доверительный интервал области содержит единицу (отношение шансов 1 : 1), следовательно, значения, полученные в опыте, отличаются от контроля не чаще, чем одни значения контроля от других, т. е. результаты опыта нельзя считать существенно отличимыми от результатов контроля.

Для получения положения левой границы доверительного интервала для произвольной концентрации нефтепродуктов все результаты (по всем показателям и по всем концентрациям в рамках каждого способа рекультивации) объединяли и строили модель положения левой границы с соответствующими доверительными интервалами, учитывающую разное положение этой границы для различных показателей. Пересечение линией модели линии нулевого значения (на логарифмической шкале OR) соответствует содержанию нефтепродуктов, начиная с которого нет оснований считать показатели состояния почвы в опыте отличающимися от показателей контроля. Наиболее высокая концентрация (7,78 г/кг) установлена для такого способа рекультивации, как рыхление, тогда как при внесении перегноя требуется большее снижение содержания нефтепродуктов (до 3,54 г/кг) для достижения сообществом стабильного состояния. Такие различия могут быть объяснены, во-первых, тем, что внесение перегноя и других органических субстратов, являющихся источниками питательных элементов, вызывает существенную стимуляцию численности и активности микроорганизмов [26–31], в результате чего различия с параметрами контрольного варианта сохраняются более длительный период. Во-вторых, применение различных рекультивационных приемов приводит к образованию соединений, различающихся по токсичности, что вызывает изменения в почвенных характеристиках в це-

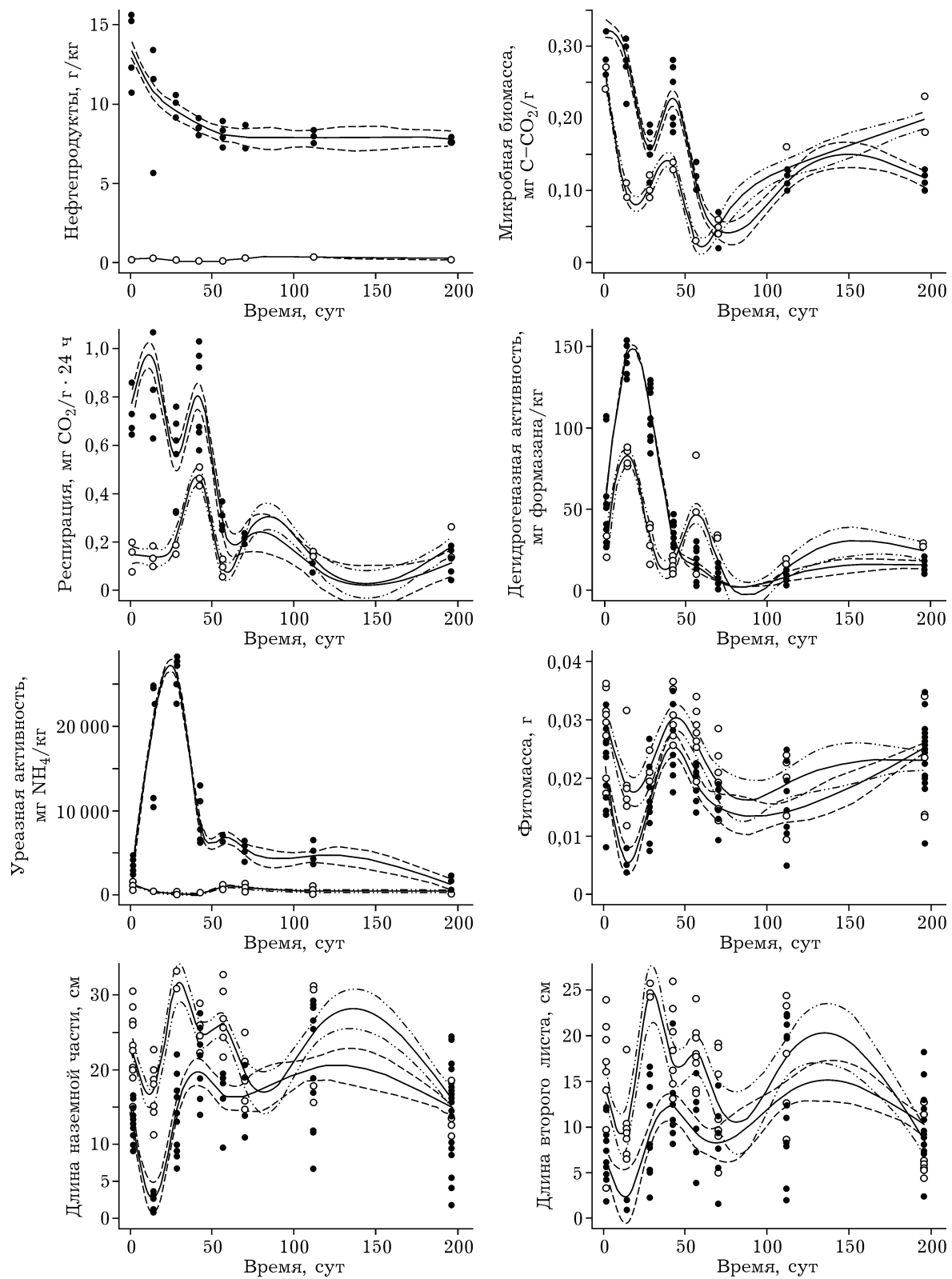


Рис. 1. Модели изменения анализируемых параметров для варианта с 3 % загрязнением и применением "Деворойла" (светлым выделен контрольный, черным – опытный вариант)

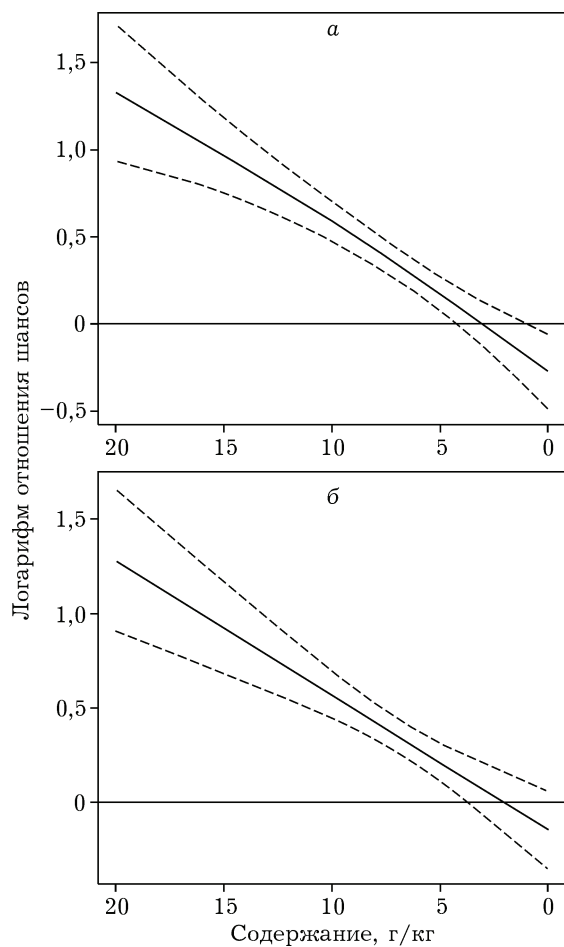


Рис. 2. Модельные оценки положения левой границы 95 % доверительного интервала отношения шансов в зависимости от содержания нефтепродуктов в почве: а – с применением мочевины и опилок, б – с применением “Деворойла” на логарифмической шкале

лом. Действительно, согласно мнению ряда авторов, различные источники органогенных элементов оказывают различное влияние на эффективность биodeградации углеводородов, что является результатом их различной биодоступности и токсичности [4, 5]. Кроме того, на почвенные организмы оказывают влияние и фитотоксины, образующиеся в почве в процессе ее рекультивации [21, 32]. На рис. 2 представлены модельные оценки положения левой границы доверительного интервала отношения шансов в зависимости от содержания нефтепродуктов для вариантов рекультивации с применением мочевины с опилками и “Деворойла”.

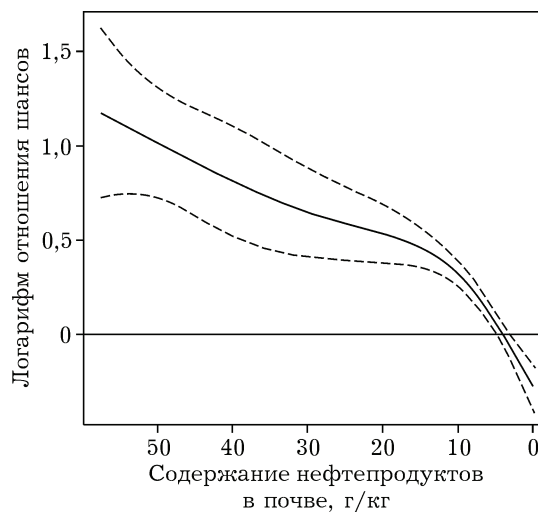


Рис. 3. Модельная оценка положения левой границы 95 % доверительного интервала отношения шансов, рассчитанного по комплексу показателей, на логарифмической шкале

Принимая во внимание, что при рекультивации почв в реальных условиях чаще всего применяется комплекс приемов, на заключительном этапе провели анализ совокупности данных по всем способам рекультивации (рис. 3). Выявлено, что интервал содержания продуктов трансформации нефти, образующихся при изученных способах рекультивации нефтезагрязненной серой лесной почвы, начиная с которого содержание нефтепродуктов можно было бы считать безопасным, составляет 3,08–4,83 г/кг. Полученное значение может быть базовым. Для последующего утверждения указанного значения в качестве норматива его следует проверить при проведении процесса рекультивации в полевых условиях.

ВЫВОДЫ

Таким образом, предлагаемый нами алгоритм, включающий лабораторное моделирование образцов, содержащих различное количество нефтепродуктов, определение в них биологических параметров, интегрально характеризующих почвенное состояние, и анализ результатов на основе статистики отношения шансов, позволяет определить содержание нефтепродуктов, начиная с которого состояние нефтезагрязненной почвы достоверно не отличается от контрольной. Такое

содержание можно считать безопасным для почвенного сообщества, а рекультивацию – завершенной.

Работа выполнена по гранту РФФИ № 11-04-00263-а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Al-Mutairi N., Bufarsan A., Al-Rukaibi F. Ecorisk evaluation and treatability potential of soils contaminated with petroleum hydrocarbon-based fuels // *Chemosphere*. 2008. N 74. P. 142–148.
2. Labud V., Garcia C., Hernandez T. Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil // *Chemosphere*. 2007. N 66. P. 1863–1871.
3. Phillips T. M., Liu D., Seech A. G., Lee H., Trevors J. T. Monitoring bioremediation in creosote-contaminated soils using chemical analysis and toxicity tests // *J. of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2000. N 24. P. 132–139.
4. Franco I., Contin M., Bragato G., De Nobili M. Microbiological resilience of soils contaminated with crude oil // *Geoderma*. 2004. N 121. P. 17–30.
5. Margesin R., Zimmerbauer A., Schinner F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities // *Chemosphere*. 2000. N 40. P. 339–346.
6. Maila M. P., Cloete T. E. The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants – perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review // *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2005. N 55. P. 1–8.
7. Киреева Н. А., Водопьянов В. В. Математическое моделирование микробиологических процессов в нефтезагрязненных почвах // *Почвоведение*. 1996. № 10. С. 1222–1226.
8. Gogoi B. K., Dutta N. N., Goswami P., Krishna Mohan T. R. A case study of bioremediation of petroleum-hydrocarbon contaminated soil at a crude oil spill site // *Advances in Environmental Research*. 2003. N 7. P. 767–782.
9. Водопьянов В. В., Киреева Н. А., Тарасенко Е. М. Фитотоксичность нефтезагрязненных почв (математическое моделирование) // *Агрехимия*. 2004. № 10. С. 73–77.
10. Водопьянов В. В., Гузаиров М. Б., Киреева Н. А. Математическое моделирование процессов в антропогенно нарушенных почвенных биосистемах. М.: Машиностроение, 2010. 232 с.
11. Селивановская С. Ю., Курицин И. Н., Савельев А. А. Оценка эффективности применения нетрадиционного удобрения на основе осадков сточных вод // *Агрехимия*. 2007. № 5. С. 68–75.
12. Галицкая П. Ю., Савельев А. А., Константинова Ю. М., Селивановская С. Ю. Использование непараметрических статистических методов для повышения надежности оценки токсичности почв // *Учен. записки Казанского гос. ун-та. Естественные науки*. Т. 150, кн. 4. 2008. С. 192–200.
13. Селивановская С. Ю., Савельев А. А., Курицин И. Н. Статистический метод оценки эффективности применения нетрадиционных удобрений // *Там же*. 2010. Т. 152, кн. 3. С. 174–185.
14. ВРД 39-1.13-056-2002. Технология очистки различных сред и поверхностей, загрязненных углеводородами / Введ приказом ОАО “Газпром” от 05.03.2002 г. № 27 с 11 марта 2002 г. М.: Газпром, 2002. 23 с.
15. Методика выполнения измерений массовой доли нефтепродуктов в почвах и донных отложениях методом ИК-спектроскопии. ПНД Ф 16.1:2.2.22-98. М., 1998. 35 с.
16. ГОСТ Р ИСО 22030-2009. Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений. М.: Стандартиформ, 2010. 16 с.
17. *Microbiological methods for assessing soil quality* / ed. by J. Bloem, D. W. Hopkins, A. Benedetti. CABI Publishing, 2006. 307 p.
18. Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.
19. Wood S. N. Stable and efficient multiple smoothing parameter estimation for generalized additive models // *J. of the American Statistical Association*. 2004. Vol. 99. P. 673–686.
20. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. 2010. Режим доступа: URL <http://www.R-project.org>.
21. Кураков А. В., Ильинский В. В., Котелевцев С. В., Садчиков А. П. Биоиндикация и реабилитация экосистем при нефтяных загрязнениях // М.: Графикон, 2006. 336 с.
22. Исмаилов Н. М. Микробиологическая и ферментативная активность нефтезагрязненных почв // *Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем* / под ред. Солнцевой. М.: Наука, 1988. С. 42–57.
23. Margesin R., Schinner F. Bioremediation of diesel-oil-contaminated alpine soils at low temperatures // *Applied Microbiol. Biotechnol.* 1997. N 47. P. 462–468.
24. Li H., Zhang Y., Kravchenko I., Xu H., Zhang Ch.-G. Dynamic changes in microbial activity and community structure during biodegradation of petroleum compounds: A laboratory experiment // *J. of Environmental Sciences*. 2007. N 19. P. 1003–1013.
25. Ахметзянова Л. Г., Селивановская С. Ю., Латыпова В. З. Лабораторное моделирование рекультивации нефтезагрязненных почв для определения допустимого остаточного содержания нефтепродуктов // *Учен. записки Казанского гос. ун-та. Естественные науки*. 2010. Т. 152, кн. 4. С. 68–77.
26. Namkoong W., Hwang E., Park J., Choi J. Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting // *Environmental Pollution*. 2002. N 119. P. 23–31.
27. Rayner J. L., Snape I., Walworth J. L., Harvey P. McA., Ferguson S. H. Petroleum-hydrocarbon contamination and remediation by microbioventing at sub-Antarctic Macquarie Island // *Cold Regions Science and Technology*. 2007. Vol. 48, Is. 2. P. 139–153.
28. Киреева Н. А., Новоселова Е. И., Хазиев Ф. Х. Использование активного ила для рекультивации почв, загрязненных нефтью // *Почвоведение*. 1996. № 1. С. 1399–1403.
29. Новоселова Е. И. Структурно-функциональная трансформация биогеоценоза при нефтяном загрязнении и пути его восстановления. Уфа: РИО БашГУ, 2004. 126 с.

30. Курочкина Г. Н., Шкидченко А. Н., Амелин А. А. Влияние нового биопрепарата на ремедиацию нефтезагрязненной серой лесной почвы // Почвоведение. 2004. № 10. С. 1241–1249.
31. Margesin R., Schinner F. Bioremediation (natural attenuation and biostimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area // Applied and Environmental Microbiology. 2001. Vol. 67. P. 3127–3133.
32. Киреева Н. А., Кузяхметов Г. Г., Мифтахова А. М., Водопьянов В. В. Фитотоксичность антропогенно-загрязненных почв. Уфа: Гилем, 2003. 266 с.

Application of the Methods of Statistical Analysis to the Determination of Safe Content of Oil Products in Gray Forest Soil

L. G. AKHMETZYANOVA, A. A. SAVELYEV, S. Yu. SELIVANOVSKAYA

*Kazan (Privolzhsky) Federal University
420008, Republic of Tatarstan, Kazan, Kremlevskaya str., 18
E-mail: leisan-ksu@mail.ru*

The algorithm of determining the content of oil products safe for plants and microorganisms in soil subjected to recultivation is presented. The algorithm includes laboratory modeling of recultivation of soil samples containing different amounts of oil products, determination of biological parameters providing an integral characterization of the soil state in these samples, and analysis of the results on the basis of the statistics of chance ratio, which allows one to determine the content of oil products starting from which the state of oil-polluted soil reliably has no differences from the reference.

Key words: oil pollution of soil, recultivation, phytotoxicity, mathematical modeling.