

ВЛИЯНИЕ ПОДВИЖНЫХ ФОРМ СЕРЫ НА ТОКСИЧНОСТЬ ТМ В ПОЧВЕ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ОСАДКА СТОЧНЫХ ВОД

А.П. Баранов, С.С. Ладан, к.б.н.,
ФГБНУ «ВНИИ агрохимии им. Д.Н. Прянишникова»,
e-mail: s.ladan@bk.ru

Проведены эксперименты по оценке возможности детоксикации ТМ в почве в условиях применения осадка сточных вод (ОСВ). Методом биотестирования на растениях ячменя и почвенных энхитреидах *Enchytraeus albidus* дана оценка эффективности способа детоксикации почвы, сильнозагрязненной Cd, Cu, Pb. В условиях лабораторного опыта изучена взаимосвязь подвижных форм серы в почве с иммобилизацией ТМ в форме сульфидов. Определены условия наиболее полного процесса детоксикации для данного метода: влажность почвы, минимальная доза ОСВ, концентрация подвижных форм серы в почве.

Ключевые слова: осадок сточных вод, сульфатредуцирующая микрофлора, сульфиды, ремедиация сильнозагрязненной почвы.

Для цитирования: Баранов А.П., Ладан С.С. Влияние подвижных форм серы на токсичность ТМ в почве при применении осадка сточных вод// Плодородие. – 2023. – №5. – С. 91–94. DOI: 10.25680/S19948603.2023.134.23.

Современное представление об основных свойствах ОСВ, связанных с внесением осадка в почву, включает положительные эффекты мелиорации и удобрения почвы, а также отрицательные результаты загрязнения почвы токсичными загрязнителями осадка. В то же время изучались свойства ОСВ, способствующие восстановлению сильнозагрязненной почвы, позволяющие восстановить угнетенную растительность и почвенную микробиоту и мезофауну. Внесение в почву органического вещества ОСВ, образованного в результате активного микробиологического процесса и имеющего высокое содержание белка, вызывает изменения почвенной микрофлоры и повышает ее активность [1], сохраняющуюся в течение длительного времени [2]. В структуре микрофлоры ОСВ содержится большой пул сульфатредуцирующих бактерий, обусловленный значительной концентрацией серы в осадке. Общая концентрация серы в осадке, по разным источникам, от 0,7 до 2,1% [3, 4]. Микробиологический анализ и секвенирование клонов круглогодичных образцов ОСВ с различных очистных сооружений показывают, что все осадки имеют сходные популяции сульфатвосстанавливающих бактерий. *Desulfobacter postgatei*, *Desulfovibrio desulfuricans* и *Desulfovibrio intestinalis* – виды, находящиеся в осадках самого разного происхождения [5]. Сульфатредуцирующая активность, наиболее высокая при анаэробном способе формирования осадка, также достигается при образовании ОСВ в аэробных условиях, благодаря выпадению гранулированного осадка – защитной стратегии бактерий от воздействия кислорода [6].

Таким образом, принцип иммобилизации ТМ с применением сульфатредуцирующих бактерий может использоваться с осадком, полученным в различных технологических процессах. В исследовании [7] показано влияние общего содержания серы на снижение фитотоксичности ТМ в условиях внесения ОСВ. В настоящей работе исследованы механизм действия иммобилизации ТМ и условия эффективной иммобилизации ТМ в присутствии ОСВ в почве. Так же изучалась и стабильность действия способа детоксикации с использованием ОСВ из разных регионов.

Методика. Для оценки способа детоксикации сильнозагрязненной почвы путем внесения ОСВ с поливом

проведено биотестирование почвы с использованием этого метода. Биотестирование проводилось с применением энхитреид *Enchytraeus albidus* и растений ячменя. Почва была загрязнена внесением кадмия, свинца и меди до 50 мг/кг, 600 и 70 мг/кг соответственно, в форме солей нитратов и оставлена на период закрепления металлов в почве (25 сут) при 65%-ной влажности в контейнерах с 700 г почвы. После периода закрепления металлов в почву равномерным перемешиванием вносили аэробно-стабилизированный осадок (очистные сооружения г. Владимира) в дозе 40 т/га. Для оценки влияния почвы с ОСВ на токсичность ТМ при разных уровнях влажности почвы 65, 75, 84 и 95%, осуществляли необходимый долив воды и проводили кондиционирование почвы в контейнерах в климатической камере при температуре 20 °С с ежесуточным контролем влажности и поддержанием шкалы влажности в вариантах опыта в течение 10 сут. За 7 дней до посева поддержание влажности почвы по вариантам прекращали и выравнивали её до уровня 65 %.

Исследование воздействия на молодые растения ячменя проводили в условиях вегетационного опыта в четырехкратной повторности. В каждый контейнер помещали четыре семени ячменя. После прорастания в каждом сосуде оставляли по два растения. Ячмень выращивали при искусственном освещении [8] в течение 17 сут в вегетационных светустановках, оснащенных подъемными световыми блоками с лампами ДНаЗ-400 (Россия). Мощность излучения в области ФАР (фотосинтетически активной радиации) – 80-90 Вт/м², продолжительность светового периода – 14 ч, относительная влажность воздуха 65±5 %, температура воздуха 25±2° С.

Биотестирование на энхитреидах (*Oligochaeta*, *Enchytraeidae*; вид *Enchytraeus albidus*) проводили по тест-реакции на выживаемость в течение 2 нед по методу [9]. В почвенных образцах определяли агрохимические показатели: pH солевой вытяжки; подвижные формы фосфора и калия в вытяжке Кирсанова, фосфор – колориметрически по Дениже, методом пламенной фотометрии; содержание органического углерода – колориметрически по методу Тюрина. Для определения общего азота применяли методику по ГОСТу 26107-84, калия и магния – по ГОСТу 26428-85. Показатели используемого торфа (массовая доля, % на сухое вещество):

зольность – 20,0, органическое вещество- 80,0, азот общий – 1,90, фосфор общий – 0,06, калий – 0,15, pH 4,6.

Содержание кадмия и свинца в зеленой массе ячменя определяли по методике массовой доли кислоторастворимых форм металлов атомно-адсорбционным анализом-РД 52.18.191-89. Для оценки зависимости величины дозы ОСВ на процесс детоксикации сильнозагрязненной почвы, а также на стабильность результатов данного метода с осадками разного происхождения [очистные сооружения Москвы (Курьяново) и Владимира] проведен опыт с внесением доз из расчета 15, 30 и 60 т/га. Образцы почвы из двух регионов (Московская и Владимирская обл.) были экспериментально загрязнены Cd, Cu и Pb в концентрациях 10, 100 и 600 мг/кг соответственно. ТМ вносили в форме нитратов. Загрязнение проводилось с месячным периодом кондиционирования образцов для закрепления ТМ в почве. Содержание подвижных форм серы определяли по ГОСТу 26490-85.

Статистическую обработку результатов биотестирования осуществляли с помощью программы «MS Excel 2003» и прикладного пакета STATISTICA 6.0. Были определены общие статистические показатели: средние величины анализируемых показателей (М), стандартная ошибка среднего (m) и наименьшая существенная

разность (НСР). Принятый в работе уровень значимости $p = 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Агрохимическая характеристика ОСВ (Владимир), используемого в биотестировании.

Влажность, %	pH _{KCl}	N _{общ.}	P ₂ O ₅ общ.	K ₂ O _{общ.}	P ₂ O ₅ подв.	K ₂ O _{общ.}	N-NO ₃
46,5	7,9	0,84	2,48	0,32	1870	370	98
НСР ₀₅	0,2	0,03	0,07	0,02	210	12	4

Показатели осадка, указанные выше, получены из аэробностабилизированного материала, т.е. находящегося в кучах в течении 2,3 лет перед внесением в почву. Валовое содержание ТМ в почве, мг/кг:

Cd	Cr	Cu	Zn	Pb	Ni
1,06	65,7	48,2	112,3	21,8	3,7

Биотестирование на энхитреидах, представителях мезофауны почвы из семейства малощетинковых червей, проводили с оценкой токсичности по их выживаемости. Результаты биотестирования продемонстрированы на рисунке 1.

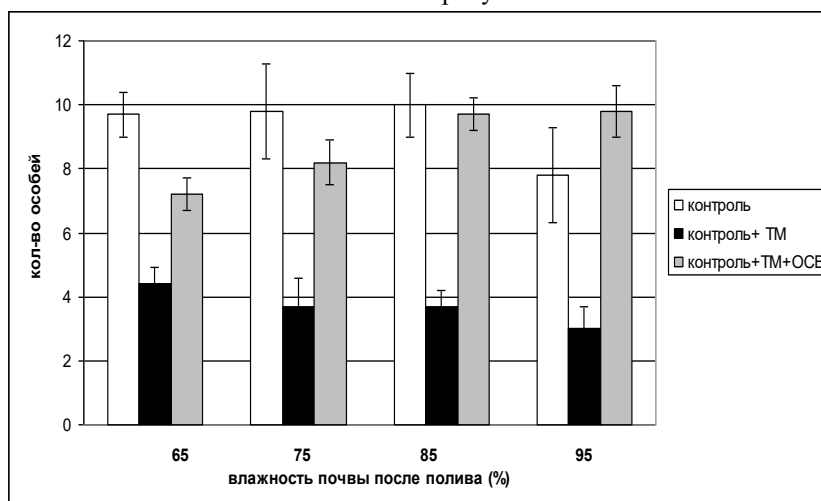


Рис. 1. Выживаемость *Enchytraeus albidus* в вариантах с загрязнением ТМ *, внесением ОСВ** при разных уровнях предпосевной влажности почвы***, где *загрязнение – Cd 50 мг/кг, Cu 70, Pb 600 мг/кг, **доза ОСВ 50 т/га, ***перед посевом влажность нивелировали до 65 % ПВ во всех вариантах

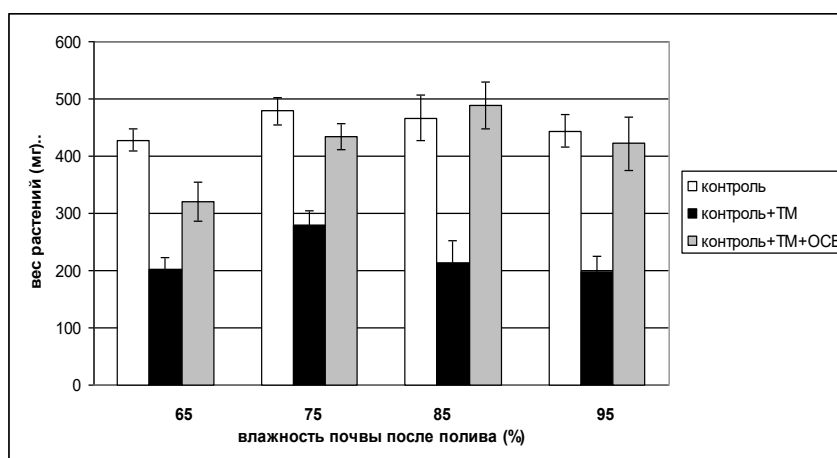


Рис. 2. Рост ячменя в вариантах с загрязнением ТМ *, внесением ОСВ** при разных уровнях предпосевной влажности почвы***: *загрязнение –Cd 50 мг/кг, Cu 70, Pb 600 мг/кг, ** доза ОСВ 50 т/га, ***перед посевом влажность нивелировали до 65 % ПВ во всех вариантах

Экстремальные концентрации ТМ, в первую очередь кадмия, примененные в эксперименте, были выбраны, чтобы доказать эффективность данного способа иммобилизации ТМ. Результаты показали стандартную чувствительность *Enchytraeus albidus* к кадмию в вариантах с загрязнением без ОСВ, где токсичность почвы превысила уровень LD₅₀ (погибло более 50 % от начального числа энхитреид). Токсичность в варианте с 65%-ной влажностью почвы при внесении ОСВ, который можно рассматривать как вариант без полива, была наибольшей по сравнению с другими аналогичными вариантами с влажностью почвы при кондиционировании 75, 85 и 95 %. За счет повышения влажности до 85-95% токсичность снизилась на 29,7 %. По-видимому, основной результат биотестирования можно наблюдать на уровне влажности 85% при сравнении токсичностей, выраженных в гибели организмов загрязненной и обработанной почвы. Токсичность сильнозагрязненной почвы полностью дезактивирована.

В опыте по биотестированию почвы с использованием ячменя токсичность выражена снижением выросшей массы ячменя по отношению к контролю. В целом соотношение величин токсичности в вариантах опыта повторяет картину биотестирования на энхитреидах. Наиболее эффективным вариантом по снижению токсичности является вариант действия ОСВ в условиях 85%-ной влажности почвы. Соотношения токсичностей между вариантами повторяют картину биотестирования на червях. В отличие от биотестирования на энхитреидах биотестирование на ячмене заняло меньший срок жизненного цикла растения. С учетом 17 сут вегетации ячменя эта разница должна вырасти при продолжающемся влиянии ТМ в условиях длительного опыта. Снижение токсичности при внесении ОСВ в варианте с 65%-ной влажностью было наименьшим по сравнению с другими аналогичными вариантами – с 75, 85 и 95 %. Механизм действия ОСВ и сульфатовосстанавливающих микроорганизмов в условиях высокой влажности почвы раскрывается в изменении концентраций подвижной серы (табл. 1). Концентрация сульфатов в варианте применения осадка с поливом – 1,45, по-видимому, обусловлена работой микрофлоры за период, прошедший после внесения ОСВ и кондиционирования почвы. Подвижность серы, представленной сульфатами и сульфидами, снизилась, перейдя в прочные соединения с металлами, в том числе ТМ. Восстановление концентрации сульфатов в

варианте с применением осадка (12,5 мг/кг) произошло, очевидно, гораздо раньше, чем через 2 мес. Внесение осадка повлияло на концентрацию подвижного Cd – 0,071, причем влияние данных условий на содержание подвижного металла было устойчивым и через 2 мес (0,058 мг/кг).

1. Динамика подвижных S и Cd в почве в процессе применения ОСВ с поливом

Вариант	ОСВ с поливом					
	Период наблюдений					
	до внесения ОСВ		после 5 сут вегетации		после 2 мес кондиционирования	
	Концентрации подвижных форм S и Cd в почве, мг/кг					
	S	Cd	S	Cd	S	Cd
Контроль*	10,23	0,033	7,81	0,019	10,98	0,037
Загрязнение	10,89	1,28	6,45	1,02	9,46	1,54
Загрязнение + ОСВ + полив	10,23	0,033	1,45	0,071	12,5	0,058
НСП ₀₅	1,04	0,01	0,87	0,01	0,94	0,02

*Контроль – почва с опытного поля ВНИПТИОУ (Владимир).

Известно значение серы в процессах устойчивости растений к неблагоприятным факторам роста [10], являющейся системообразующим элементом для пула серо-содержащих биологически активных соединений растения, синтезированных из сульфатной формы серы. Однако в данном случае данные таблицы 2 демонстрируют другой механизм защиты серой, целиком заключенный в почве. Аккумуляция ТМ существенно дифференцирована по вариантам. В загрязненном варианте накопление Cd привело к увеличению содержания металла почти в 50 раз. В то же время, внесение ОСВ с поливом показало содержание, превышающее контроль только в 10 раз. По-видимому, иммобилизация не происходит в течении всего вегетационного периода. Скорость окисления образующих сульфидов в почве с восстановленной аэрацией достаточно высока. В исследовании [11] добавление кислорода в сильно восстановленные почвы приводило к быстрому снижению содержания сульфидов, при этом половина сульфида окислялась за 15 мин, а весь сульфид – через 8 ч. Процессы взаимного перехода подвижных форм серы существенно динамичны за счет высокого содержания микрофлоры [12], обеспеченной питательными веществами осадка. При затоплении почв сульфиды образуются в измеримых количествах уже через 3-4 дня [13,14].

2. Содержание ТМ в надземной части ячменя

Вариант	2. Содержание ТМ в надземной части ячменя							
	Влажность почвы, % ПВ							
	65		75		85		95	
	ТМ							
	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb
К	0,06± 0,02	0,46 ±0,05	0,07± 0,06	0,46±0,05	0,03± 0,02	0,46±0,05	0,03± 0,02	0,46±0,05
К + ТМ	1,96 ±0,52	23,12 ± 2,54	0,24± 0,14	46,77 ±2,56	0,04±0,557	7,65±0,421	0,77±0,987	4,54 ±0,887
К + ТМ + ОСВп	0,94±0,01	2,98 ± 0,31	0,65± 0,11	0,49 ±0,03	0,22± 0,04	3,66±0,33	0,021±0,223	0,31±0,44

Применение ОСВ предполагает использование достаточно разнородного материала. При существующих аэробном и анаэробном способах переработки осадка с последующим разнообразием в условиях хранения выработанного осадка, можно предположить значительную разницу в газообразных потерях серы и, как следствие, в результатах применения метода внесения ОСВ с увлажнением почвы.

Кроме того, величина используемой дозы ОСВ для проведения процесса иммобилизации должна обеспечивать достаточное содержание сульфидов, активно вступающих в реакцию с железом почвы. Образующийся сульфид в первую очередь может быть в значительной степени изолирован в почве реакциями с железом [15].

В таблице 3 приведен прирост зеленой массы ячменя на сильнозагрязненных почвах из двух регионов после применения ОСВ различного происхождения (московские и владимирские очистные сооружения с переработкой осадка в аэротенках) с увлажнением почвы до 85% ПВ. Данные таблицы показывают снижение токсичности почв во всех вариантах применения обоих ОСВ. Уровень снижения токсичности на почве М является наименьшим. Наиболее вероятным объяснением такой разницы может быть более низкий рН почвы, снижающий активность сульфатредуцирующей микрофлоры.

3. Влияние добавки анаэробно стабилизированного ОСВ на прирост зеленой массы ячменя (17 сут выращивания) на загрязненных ТМ почвах в условиях (полив и экспозиция поддерживаемой влажности) предлагаемого метода

Поч- ва	Влияние дозы предпосевного удобрения							
	ОСВ1*				ОСВ2**			
	Доза внесения, т/га							
	-	15	30	60	-	15	30	60
М	226,8	311,3	402,1	431,7	201,6	398,8	404,7	422,8
В	254,5	452,7	531,3	511,2	311,2	411,6	457,7	475,2
НСР	28,03	36,7	20,9	31,4	27,8	33,3	37,8	20,7

*ОСВ 1 – Москва – Курьяновские очистные сооружения,

**ОСВ 2 – Владимирские очистные сооружения.

М – почва ЦОС (Барыбино).

В – почва ВНИИ органических удобрений и торфа. Владимир.

Искусственное загрязнение почв : Cd – 10 мг/кг, Cu – 100 мг/кг,

Pb – 600 мг/кг.

Таким образом, действие предлагаемого способа имеет ограничения по условиям почвенной кислотности. Применение сульфатредуцирующих бактерий для иммобилизации ТМ – известный прием [5,16,17], используемый в различных технологических процессах очистки вод и осадков. В данной работе исследуется возможность переноса этих процессов в почву и моделирования их в соответствии с почвенным разнообразием. Результаты экспериментов подразумевают эффективность данного приема, так как в нем сочетаются процессы удобрения почвы и ее детоксикации.

Применение приемов использования сульфидов для детоксикации ТМ требует широких исследований, так как колебания физико-химических условий могут влиять на круговорот серы и, следовательно, прямо или косвенно привести к конверсии и миграции тяжелых металлов [18].

Выводы. ОСВ в зависимости от уровня загрязнения почвы может играть роль как загрязнителя, так и мелиоранта, снижающего токсичность почвы для растений и почвенной биоты.

При высоком уровне загрязнения почвы тяжелыми металлами внесение осадка в почву с высокой влажностью (85-95% ПВ) приводит к иммобилизации ТМ.

Существенным фактором снижения токсичности ТМ в почве при использовании ОСВ является полив.

THE EFFECT OF MOBILE FORMS OF SULFUR ON THE TOXICITY OF TM IN THE SOIL WHEN USING SEWAGE SLUDGE

*Baranov A.P., Ladan S.S., Candidate of Biological Sciences,
D.N.Pryanishnikov Research Institute of Agrochemistry, e-mail: info@vniia-pr.ru*

Experiments were carried out to assess the possibility of detoxification of TM in the soil under the conditions of the use of SS. By the method of biotesting on plants of Hordeum vulgare and soil Enchytraeus albidus enchytraeids, the effectiveness of techniques for detoxification of significant Cd, Cu, Pb contamination at concentrations of 50, 70 and 600 mg/kg, respectively, was evaluated. In the conditions of laboratory experiment, the balance of mobile forms of sulfur in the soil was adjusted, followed by the immobilization of TM in the form of sulfides. The conditions of the most complete detoxification process for this method are determined: soil moisture, the minimum dose of SS, the concentration of mobile forms of sulfur in the soil.

Keywords: sewage sludge, sulfate reducing microflora, sulfides, remediation of heavily polluted soil.

Литература

1. Garcia-Gil J.C., C. Plaza, A. Polo. Sewage sludge effects on biological and biochemical parameters in a degraded soil. Waste Management and the Environment, 2002, p. 341-350.
2. Napora A., Grobela A. Wpływ osadów ściekowych na aktywność mikrobiologiczną i biochemiczną gleby (Sewage Sludge Influence on Microbiological and Biochemical Soil Activity) Inżynieria i Ochrona Środowiska 2014, t. 17, nr 4, s. 619-630.
3. Sommers L. E., Tabatabai M. A., Nelson D. W. Forms of Sulfur in Sewage Sludge. Journal of Environmental Quality volume 6, issue 3/ 1977 42-46.
4. Dewil, J. Baeyens, J. Roels, B. Van DE Steen. Evolution of the Total Sulphur Content in Full-Scale Wastewater Sludge Treatment, 2009, Environmental Engineering Science 26(4):867-872.
5. Van den Brand T.P.H., Roest K., Chen G.H., Brdjanovic D. Occurrence and activity of sulphate reducing bacteria in aerobic activated sludge systems World Journal of Microbiology and Biotechnology. (2015). volume 31, pages 507-516.
6. Хамидуллина И. В., Хлебникова Т. Д., Хамидуллин И. Р. Особенности использования сульфатовосстанавливающих бактерий для очистки сточных вод от ионов тяжелых металлов// Башкирский химический журнал. – 2012. – Т. 19. – № 3. – С. 147-151.
7. Баранов А. П., Ладан С. С. Влияние серы на фитотоксичность тяжелых металлов// Плодородие. – 2022. – № 5. – С. 86-90.
8. Панова Г. Г., Черноусов И. Н., Удалова О. Р., Александров А. В., Карманов И. В., Аникина Л. М., Суаков В. Л. Научно-технические основы круглогодичного получения высоких урожаев качественной растительной продукции при искусственном освещении// Доклады РАСХН. – 2015. – № 4. – С. 17-21.
9. Горшкова И. А., Гонгальский К. Б., Терехова В. А. Методика измерения токсичности почв по реакциям энхитреид. ФР. 1.39.2014.18039. – М., MDMprint, 2014. – С. 24.
10. Bloem Elke Haneklaus Silvia Schnug Ewald Milestones in plant sulfur research on sulfur-induced-resistance (SIR) in Europe Frontiers in Plant Science 2015 5(422) P. 1-12.
11. Connell W. E. Patric Jr. W. H. Reduction of Sulfate to Sulfide in Waterlogged Soil Soil Science Society of America Journal 1969. V 33 p. 711-715
12. Bloomfield S. Sulphate reduction in waterlogged soils European Journal of soil science 20(1):207-221.
13. Керзум П. А., Васильчикова Н. А., Горбунова Р. Г., Захарченко А. Ф. К опросу о влиянии окислительно-восстановительных процессов на состав луговых почв. Труды Тадж. НИИ почвоведения. -1972. – Т. 15. – № 1.
14. Strakey R. L. Oxidation and reduction of sulfur compounds of the soil/ Soil science 1966. v 101. №4. 1020-1026.
15. Leon P. M. Lamers, Laura L. Govers Inge C. J. M. Janssen Jeroen J. M. Geurts Marlies E. W. Van der Welle Marieke M. Van Katwijk Tjisse Van der Heide I, Jan G. M. Roelofs Alfons J. P. Smolders. Sulfide as a soil phytotoxin—a review. Front. Plant Sci., Sec. Plant Physiology – 2013, Volume 4. 1-14.
16. Черныш Е. Ю., Влияние сульфидной фракции на поведение тяжелых металлов в системе «осадки сточных вод-почва-растения»// Вестник БГТУ им. В. Г. Шухова. – 2013. – № 2. – С. 159-162.
17. Zhang, Ming-Liang and Wang, Hai-Xia. Removal of Cadmium, Iron and Sulfate from Synthetic Acid Rock Drainage Using Metal-Tolerant Sulfate Reducing Bacterial Sludge. Materials in Environmental Engineering: Proceedings of the 4th Annual International Conference on Materials Science and Environmental Engineering, edited by Hadi Haeri, Berlin, Boston: De Gruyter, 2017, pp. 1235-1244.
18. Yueming Wu, Zhang rui Leng, Jian Li, Chong ling Yang, Xinhong Wang, Hui Jia, Lingyun Chen, Said Zhang, Xiaojun Zhang, Daolin Du Sulfur mediated heavy metal biogeochemical cycles in coastal wetlands: From sediments, rhizosphere to vegetation. Frontiers of Environmental Science & Engineering. 16, 102 (2022).