

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2738482

СПОСОБ РЕКУЛЬТИВАЦИИ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ НЕФТЬЮ И НЕФТЕПРОДУКТАМИ

Патентообладатель: *федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский горный университет» (RU)*

Авторы: *Смирнов Юрий Дмитриевич (RU), Корельский Денис Сергеевич (RU), Матвеева Вера Анатольевна (RU), Заманова Айсель Сабир Кызы (RU)*

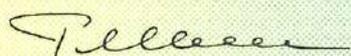
Заявка № 2020121324

Приоритет изобретения 26 июня 2020 г.

Дата государственной регистрации в
Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 14 декабря 2020 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 26 июня 2040 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

 Г.П. Исвлев





ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
B09C 1/10 (2020.08); C12N 1/20 (2020.08)

(21)(22) Заявка: 2020121324, 26.06.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.06.2020

Дата регистрации:
14.12.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 26.06.2020

(45) Опубликовано: 14.12.2020 Бюл. № 35

Адрес для переписки:
199106, Санкт-Петербург, В.О., 21 линия, 2,
ФГБОУ ВО "СПГУ", Патентно-лицензионный
отдел

(72) Автор(ы):

Смирнов Юрий Дмитриевич (RU),
Корельский Денис Сергеевич (RU),
Матвеева Вера Анатольевна (RU),
Заманова Айсель Сабир Кызы (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Санкт-Петербургский горный
университет» (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2491138 C1,27.08.2013. RU
2323790 C1,10.05.2008. RU 2301258 C2,
20.06.2007.

(54) СПОСОБ РЕКУЛЬТИВАЦИИ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ НЕФТЬЮ И НЕФТЕПРОДУКТАМИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии. Способ предусматривает обработку почвы, загрязненной нефтью и нефтепродуктами, раствором биофунгицида на основе *Bacillus subtilis*, в соотношении от 4 до 6 г порошка на 10 л воды на 1 м² площади загрязненной поверхности. После этого, но не менее чем через 2 ч, вносят смесь адсорбента-мелиоранта – пивная дробина и медленно высвобождающееся

органическое удобрение - отработанный кизельгур в соотношении 1-1,5:1. При этом используют пивную дробину влажностью от 10 до 17% и отработанный кизельгур влажностью от 60 до 75%. Далее проводят рыхление на глубину от 25 до 30 см и орошение поверхности. Изобретение обеспечивает эффективную рекультивацию загрязненной нефтью и нефтепродуктами почвы. 5 табл., 3 пр.

RU 2 738 482 C1

RU 2 738 482 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11)**2 738 482**⁽¹³⁾ **C1**

(51) Int. Cl.
B09C 1/10 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
B09C 1/10 (2020.08); C12N 1/20 (2020.08)

(21)(22) Application: **2020121324, 26.06.2020**(24) Effective date for property rights:
26.06.2020

Registration date:
14.12.2020

Priority:

(22) Date of filing: **26.06.2020**(45) Date of publication: **14.12.2020 Bull. № 35**

Mail address:

**199106, Sankt-Peterburg, V.O., 21 liniya, 2, FGBOU
VO "SPGU", Patentno-litsenzionnyj otdel**

(72) Inventor(s):

**Smirnov Iurii Dmitrievich (RU),
Korelskii Denis Sergeevich (RU),
Matveeva Vera Anatolevna (RU),
Zamanova Aisel Sabir Kyzy (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia «Sankt-Peterburgskii gornyi
universitet» (RU)**

(54) RECULTIVATION METHOD OF SOIL CONTAMINATED WITH OIL AND OIL PRODUCTS

(57) Abstract:

FIELD: biotechnologies.

SUBSTANCE: invention relates to the biotechnology. Method involves treating soil contaminated with oil and oil products, a *Bacillus subtilis*-based biofungicide solution in ratio of 4 to 6 g of powder per 10 l of water per 1 m² of the contaminated surface area. After that, but not less than 2 hours, a mixture of adsorbent-ameliorant - brewer

grains and slowly released organic fertilizer - waste kieselguhr at ratio of 1-1.5:1. Brewer grains with moisture content of 10 to 17% and waste kieselguhr with humidity of 60 to 75% are used. Then, loosening is performed at depth of 25-30 cm and surface irrigation is performed.

EFFECT: invention provides effective recultivation of soil contaminated with oil and oil products.

1 cl, 5 tbl, 3 ex

C 1
2 7 3 8 4 8 2
R U

R U
2 7 3 8 4 8 2
C 1

Изобретение относится к области охраны окружающей среды, в частности к области рекультивации нефтезагрязненных земель путем стимуляции природной биодegradации путем улучшения аэрации загрязненной почвы, водного режима, соотношения питательных компонентов: углерода, азота и фосфора, внесения эмульгаторов и органических материалов.

Известен способ рекультивации нефтезагрязненных почвогрунтов (патент РФ №2522354, опубл. 10.07.2014 г.), заключающийся в сборе разлитой нефти с поверхности почвогрунта сорбентами и сборе загрязненного нефтью почвогрунта для рекуперации, отличающийся тем, что загрязненный нефтью почвогрунт расстилают на ровную поверхность свежеспаханного незагрязненного поля слоем толщиной от 1/10 до 1/6 части глубины вспашки и перемешивают во всю глубину вспашки с помощью культиватора несколько раз.

Недостатками данного способа являются длительный период рекультивации и последующего восстановления почв, а также необходимость отвода большого количества незагрязненных территорий.

Известен способ ремедиации загрязненной нефтепродуктами почвы или грунта (патент РФ № 2301258, опубл. 20.06.2007 г.), который включает внесение в почву мелассы (дополнительного легкодоступного источника углерода) до конечной концентрации сахаров 3-10 г/кг почвы и ПАВ в диапазоне концентраций 10-40 мг/кг почвы. Дополнительно вносят калий, и/или азот, и/или фосфор в количестве по 0,112 г/ кг почвы. После внесения добавки осуществляют поддержание температурного и водного режима почвы для обеспечения жизненной функции микроорганизмов в течение не менее 2 месяцев до остаточного содержания углеводородной фракции 30-40%.

Недостатком является короткое время активности мелассы, кроме того необходимость поддержания температурного и водного режима почвы усложняет применимость способа, низкая скорость биоразлагаемости ПАВ ограничивает их применение.

Известен способ применения избыточного активного ила очистных сооружений хозяйственно-бытовых сточных вод для биологической рекультивации нефтезагрязненных земель (патент РФ №2646242, опубл. 02.03.2018 г.), который включает стабилизацию, уплотнение, обеззараживание и обезвоживание избыточного активного ила очистных сооружений хозяйственно-бытовых сточных вод, установление класса опасности, который не должен быть выше IV, определение состава и концентрации биогенных элементов в избыточном активном иле, проведение расчета дозы вносимого в почву избыточного активного ила и установление достаточности усвояемых форм азота, фосфора и калия, устранение дефицита калия в избыточном активном иле путем внесения в него калийных удобрений, проведение известкования нефтезагрязненных земель на кислых почвах до получения значений водородного показателя (pH), близких к нейтральным, внесение избыточного активного ила с калийными удобрениями в нефтезагрязненные земли под вспашку, орошение и поддержание почвы во влажном состоянии, причем избыточный активный ил вносят в рекультивируемые нефтезагрязненные земли под вспашку в количестве 8-20 т/га с калием хлористым в количестве 100 кг/га и известью жженой гашеной в количестве 700 кг/га.

Недостатком данного способа является его использование избыточного активного ила, требующего последующей долговременной переработки и высокая длительность процесса рекультивации, превышающая один сезон.

Известен способ рекультивации нефтезагрязненных земель (патент РФ №2433875, опубл. 20.11.2011 г.), заключающийся в том, что материал наносят на поверхность

нефтезагрязненных земель, а в качестве материала используются отработанный проппант в виде шариков с плотностью более 10^3 кг/м³, которые продавливают нефтезагрязненную почву, образуя при этом множество отверстий, чем обеспечивают поступление воздуха и влаги в почву, что ускоряет размножение аборигенных микроорганизмов.

Недостатком способа является использование отработанного проппанта - отхода нефтегазовой промышленности, который относится к III классу опасности. Кроме того, без внесения дополнительных питательных элементов для аборигенных микроорганизмов, продлеваются сроки восстановления почвы.

Известен способ очистки и рекультивации почвы, загрязненной нефтью и нефтепродуктами (патент РФ №2491138, опублик. 27.08.2013 г.), принятый за прототип, заключающийся в том, что в почву вносят природный высокопористый адсорбент-мелиорант и медленно высвобождающееся органическое удобрение, в качестве которых используют отработанный кизельгур, образующийся в качестве отхода при фильтрации пива, сухую пивную дробину, образующуюся при фильтрации затора, смешанную с отработанным кизельгуром в соотношениях 1-5:1-2 либо смешанную с избыточными пивными дрожжами, оседающими в конце главного брожения, и отработанным кизельгуром в соотношениях 1-5:0,1-1:1-2, а затем полученную смесь вносят в нефтезагрязненную почву и производят рыхление, через месяц процедуру повторяют.

Недостатком способа является то, что не контролируется влажность используемых компонентов в смеси, размножение плесневых грибов и использование биологически активных компонентов, что приводит к дополнительному биологическому загрязнению рекультивируемой поверхности.

Техническим результатом изобретения является повышение эффективности биоремедиации загрязненных нефтью земель, экологическая чистота компонентов, а также улучшение структуры и водопроницаемости почвы.

Технический результат достигается тем, что в отсутствие прямого действия ультрафиолетового излучения, почву обрабатывают раствором биофунгицида на основе *Bacillus subtilis*, в соотношении от 4 до 6 г порошка на 10 л воды на 1 м² площади загрязненной поверхности, после этого, не менее чем через 2 ч, вносят смесь адсорбента-мелиоранта и медленно высвобождающееся органическое удобрение в соотношении 1-1,5:1, при этом используют пивную дробину влажностью от 10 до 17% и отработанный кизельгур влажностью от 60 до 75%, далее проводят рыхление на глубину от 25 до 30 см и орошение поверхности.

Способ осуществляется следующим образом.

Загрязненную нефтью и нефтепродуктами почву предварительно за 2 часа до проведения рекультивации обрабатывают с использованием поливочных установок раствором биофунгицида на основе *Bacillus subtilis*. Раствор готовят следующим образом: порошок препарата биофунгицида на основе *Bacillus subtilis* разводят в следующем соотношении от 4 до 6 г порошка в 10 л воды на 1 м² площади загрязненной поверхности. Полив необходимо осуществлять в отсутствие прямого действия ультрафиолетового излучения или в темное время суток, поскольку штаммы *Bacillus subtilis* погибают при ярком солнечном свете.

Рядом с проведением работ, происходит смешивание адсорбента-мелиоранта и медленно высвобождающееся органическое удобрение. В качестве адсорбента-мелиоранта используется пивная дробина. Пивная дробина представляет собой вторичный продукт пивоварения светло-коричневого цвета, состоящий из дробленых

зернопродуктов и солода, оставшихся после фильтрования затора. Имеет хлебный, зерновой запах. Пивная дробина состоит из жидкой (45%) и твердой (55%) фаз. Твердая фаза дробины содержит оболочку и нерастворимую часть зерна, жидкая – безазотистые экстрактивные вещества, жиры и белки, входящие в состав зерна (Таблица 1).

5 Таблица 1- Химический состав сухой пивной дробины

Химический элемент	Массовая доля, %
K	32,24
Si	24,47
Ca	15,66
P	12,14
S	11,99
N	5,64
Na	1,92
Mg	1,58

15 В качестве медленно высвобождающегося органического удобрения используется отработанный кизельгур. Отработанный кизельгур (таблица 2) - вторичный продукт пивоварения коричневого цвета, образующийся на стадии фильтрации пива, имеет ярко выраженный хмельной аромат. Он состоит из кизельгура и органических веществ, осевших на нем в процессе фильтрации. Частицы кизельгура представляют собой раковины диатомовых морских водорослей. Он состоит, прежде всего, из оксида кремния 20 (90 %), большая часть которого находится в аморфной форме. Минеральный состав кизельгура содержит оксиды Al_2O_3 , Fe_2O_3 , CaO , TiO_2 , MgO , Na_2O , K_2O . Органическая составляющая отработанного кизельгура представлена дрожжевыми клетками и белками. Химический состав отработанного кизельгура представлен в таблице 2.

25 Таблица 2 - Химический состав отработанного кизельгура

Оксид	Массовая доля, %
SiO_2	80,0-99,0
Al_2O_3	0,1-6,0
Fe_2O_3	< 3,0
CaO	0,5-2,0
Na_2O	0,5-3,0
K_2O	0,5-3,0
TiO_2	0,5-3,0
MgO	0,5-3,0

35 Пивную дробину и отработанный кизельгур вносят в почву при следующем соотношении 1-1,5:1.

40 Перемешивание происходит с помощью промышленных перемешивающих устройств при больших объемах отходов либо вручную при малых объемах. Влажность пивной дробины допускается от 10 до 17%, а влажность отработанного кизельгура составляет от 60 до 75%.

Доставка приготовленной смеси к рекультивируемой территории осуществляется посредством автотранспорта.

45 Внесение пивной дробины и отработанного кизельгура на поверхность загрязненной почвы осуществляется тракторами с разбрасывателями твердых органических удобрений или экскаваторами. Для равномерного распределения пивной дробины и отработанного кизельгура в объеме загрязненной почвы, а также для усиления аэрации проводят рыхление на глубину от 25 до 30 см с помощью культиватора. Поддержание почвы во

влажном состоянии является одним из агротехнических приемов управления биологической активностью и оказывает эффективное воздействие на темпы разложения нефти/нефтепродуктов.

Орошение рекультивируемых земель производят согласно принятым в каждом регионе оросительным нормам.

Использование смеси пивной дробины и отработанного кизельгура на нефтезагрязненных почвах стимулирует углеводородокисляющие микроорганизмы, выступая для них в качестве источников питания.

Применение способа приводит к стимулированию биодеструкции нефтяных углеводородов, улучшению структуры и водопроницаемости почв, а также обогащению их питательными элементами, утилизацию основных отходов пивоваренного производства.

Способ рекультивации почвы, загрязненной нефтью и нефтепродуктами поясняется следующими примерами:

Пример №1. Опыт проводился в лабораторных условиях, проведенном в аккредитованном Центре коллективного пользования Санкт-Петербургского горного университета. Были созданы 5 модельных участка, один из которых представлял контрольный образец, в пластмассовых контейнерах, куда помещали почву в количестве 700 гр. Затем почву искусственно загрязняли сырой нефтью легкой плотности Баженовского месторождения в массовой концентрации 3, 5, 10, 20 г/кг.

Образцы не обрабатывались раствором биофунгицида на основе *Bacillus subtilis*.

Следующим этапом являлось смешивание пивной дробины с отработанным кизельгуром. Смешивание выполнялось вручную. Затем к каждому участку вносилась смесь пивной дробины и отработанного кизельгура в количестве 30% от массы почвы в соотношении 1:1. В течение всего опыта образцы разрыхляли и поливали по мере необходимости. Анализ проб, отобранных с нефтезагрязненных модельных участков, был произведен флуориметрическим методом измерений массовой доли нефтепродуктов в почве, который основан на их экстракции из образца гексаном с последующим измерением интенсивности флуоресценции очищенного экстракта на анализаторе «ФЛЮОРАТ-02» согласно методике ПНД Ф 16.1:2.21-98. Результаты анализа приведены в таблице 3. При определении концентрации в модельных образцах учитывалось разбавление концентрации.

Таблица 3 - Результаты флуориметрического метода анализа

Образец	Концентрация НП в почве, мг нефти на 700 г почвы			
	05/11/19	25/11/19	5/12/19	20/02/20
Контрольный	2100	651,7 ± 0,2	541,8 ± 0,19	196,7 ± 0,07
Модельный	1616	691,6 ± 0,2	338,5 ± 0,09	173,8 ± 0,06
Модельный	2693	1362,2 ± 0,4	856,3 ± 0,23	687,0 ± 1,18
Модельный	5385	2293,2 ± 0,6	1979,2 ± 0,54	1440,5 ± 0,39
Модельный	10770	6196,8 ± 1,7	5933,2 ± 1,63	4639,1 ± 1,27

Через четыре месяца эксперимента степень удаления нефти при невысоких концентрациях загрязнения составила 75-90%, при высоких – 57-74%. Однако в ходе эксперимента было зафиксировано размножение плесени.

Пример №2. Для лабораторного эксперимента, проведенном в аккредитованном Центре коллективного пользования Санкт-Петербургского горного университета, было сформировано 7 модельных участков, 2 из которых представляли контрольные образцы, в пластмассовых контейнерах с количеством почвы=600 гр. Затем искусственно загрязняли сырой нефтью легкой плотности Баженовского месторождения с

концентрациями нефти 1, 2, 3, 5, 10 г/кг.

Начальным этапом было применение биофунгицида на основе *Bacillus subtilis*, заключающимся в разведении водой порошка препарата, для профилактики возникновения плесени. Биофунгицид представляет собой порошкообразную массу на основе сенной палочки. Согласно инструкции, для обработки 1 м² почвы необходимо разводить 4-6 г порошка 10 л воды. Затем этим раствором полили образцы.

Следующий этап - добавление, перемешанных вручную пивной дробины и отработанного кизельгура в количестве 30% в соотношении 1,5:1. Образцы аэрировались и поливались в неделю два раза, согласно принятым в регионе оросительным нормам. Эффективность биодegradации нефтяного загрязнения при использовании органических компонентов отходов пивоварения исследовали флуориметрическим методом анализа. Результаты эксперимента представлены в таблице 4. При определении концентрации в модельных образцах учитывалось разбавление концентрации.

Таблица 4 - Результаты флуориметрического метода анализа

Образец	Концентрация НП в почве, мг нефти на 600 г			
	28/11/19	17/12/19	28/12/19	12/03/20
Контрольный	600	126,0 ±0,06	100,8±0,04	19,0±0,008
Контрольный	1200	256,2 ±0,09	222,9±0,06	180,6±0,06
Модельный	462	101,4 ±0,04	81,1±0,03	15,6±0,006
Модельный	923	205,1 ±0,06	182,52±0,05	146,6±0,06
Модельный	1385	479,7 ±0,15	374,4±0,11	302,6±0,09
Модельный	2308	649,7 ±0,20	529,6±0,16	486,7±0,15
Модельный	4616	1326 ±0,42	1306,5±0,40	1248±0,40

За четыре месяца эксперимента степень удаления нефти при низких концентрациях загрязнения составила 79-91%, при высоких концентрациях - 73-79%. При данном эксперименте было зафиксировано совсем незначительное размножение плесени.

Исходя из вышеприведенных таблиц установлено стимулирующее воздействие на процесс биодеструкции углеводородов нефти при добавлении пивной дробины и отработанного кизельгура.

Пример №3. Выполнение способа на экспериментальных площадках представлено ниже.

Начальным этапом является внесение биофунгицида на основе *Bacillus subtilis* в пасмурную погоду или в темное время суток, так как бактерия сенной палочки (любые её штаммы) погибает на ярком солнечном свете. Штаммы бактерий *Bacillus subtilis* не вредны для человека и животных, управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США присвоила им статус GRAS (generally regarded as safe) - безопасных организмов. Для этого порошок биофунгицида необходимо разводить в воде за два часа до обработки почвы. Затем с помощью поливочных установок обработать этим раствором участок.

На следующем этапе пивную дробину смешивают с отработанным кизельгуром с помощью промышленных перемешивающих устройств. Внесение органических компонентов отходов пивоваренной промышленности на поверхность загрязненной почвы осуществляется тракторами с разбрасывателями твердых органических удобрений или экскаваторами. На 1 га нефтезагрязненной территории потребуется 50 т смеси пивной дробины влажностью 10-15% и отработанного кизельгура влажностью 60-75% в соотношении 1-1,5:1. Далее для равномерного распределения пивной дробины и отработанного кизельгура в объеме загрязненной почвы, а также для усиления аэрации проводят рыхление на глубину не менее 25-30 см с помощью культиватора. На

рекультивируемых землях производят орошение для улучшения водного режима почв согласно принятым в регионе оросительным нормам.

Исходное содержание нефти на участке 10 г/кг, степень деградации нефти - 53%.

Исходя из таблицы 5, способ обработки почвы биофунгицидом в количестве 4-6 г порошка в 10 л воды на 1 м² перед внесением смеси органических отходов пивоварения более эффективный, потому что практически сводится к минимуму размножение плесени.

Таблица 5- Сравнительная характеристика эффективности способа

Показатель	Примеры		
	1	2	3
Метод биоремедиации	In situ	In situ	In situ
Степень удаления углеводородов нефти, %	57-90	73-91	53
Соотношение пивная дробина: отработанный кизельгур	1:1	1,5:1	1-1,5:1
Биофунгицид	не добавлен	Добавлен (4 г порошка в 10 л воды на 1 м ²)	Добавлен (6 г порошка в 10 л воды на 1 м ²)
Плесень	+	-	-

Использование пивной дробины и отработанного кизельгура в качестве почвоулучшителя имеет ряд положительных факторов: увеличивается содержание органического вещества в почве, характеризуются высокой обеспеченностью азотом, улучшается агрегатный состав и водоудерживающая способность почв, кроме того они не содержат токсичных веществ, яиц гельминтов.

Улучшение структуры, водопроницаемости и повышение эффективность очистки почвы происходит за счет оптимального выбора влажности и соотношения компонентов сорбента, и предварительной обработки раствором биофунгицида, которая препятствует упрочнению структуры очищаемой поверхности почвы.

Эффективность предложенного способа при низкой контаминации почв нефтью составила 75-91%, при высокой - 57-79%. Скорость удаления нефти из почвы при добавлении отходов пивоваренной промышленности увеличивается в 1,5 раза.

Способ позволяет повысить биологическую активность почвы, увеличить содержание в ней полезных химических веществ, улучшить структуру и водопроницаемость и повысить эффективность очистки почвы.

(57) Формула изобретения

Способ рекультивации почвы, загрязненной нефтью и нефтепродуктами, включающий внесение в почву природного высокопористого адсорбента-мелиоранта, в качестве которого используют пивную дробину, и медленно высвобождающееся органическое удобрение, в качестве которого используют отработанный кизельгур, отличающийся тем, что в отсутствии прямого действия ультрафиолетового излучения почву обрабатывают раствором биофунгицида на основе *Bacillus subtilis* в соотношении от 4 до 6 г порошка на 10 л воды на 1 м² площади загрязненной поверхности, после этого, но не менее чем через 2 ч, вносят смесь адсорбента-мелиоранта и медленно высвобождающееся органическое удобрение в соотношении 1-1,5:1, при этом используют пивную дробину влажностью от 10 до 17% и отработанный кизельгур влажностью от 60 до 75%, далее проводят рыхление на глубину от 25 до 30 см и орошение поверхности.