

Министерство просвещения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Тульский государственный педагогический
университет им. Л.Н. Толстого»
(ТГПУ им. Л.Н. Толстого)

УДК 631.41

Рег. № НИОКТР 122122800094-9

Рег. № ИКРБС

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научно-исследовательской работе
ФГБОУ ВО «ТГПУ им. Л. Н. Толстого»
д-р. пед. наук, проф.

Е.Ю. Ромашина

2024 г.



ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

ИММОБИЛИЗАЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ПРОДУКТАМИ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СЛОИСТЫХ СИЛИКАТОВ С ПОЧВЕННЫМ
ОРГАНИЧЕСКИМ ВЕЩЕСТВОМ И МИКРООРГАНИЗМАМИ
в рамках государственного задания Министерства просвещения РФ
№ 073-00033-24-01 от 09.02.2024 г.
(заключительный)

Руководитель работы:
заведующий НИЛ
химии и экологии почв

М.В. Бурачевская

Тула 2024

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель НИР:

Зав. НИЛ химии и экологии
почв, канд. биол. Наук



М.В. Бурачевская

(разделы 4.2.2, 4.4, 4.5, 4.6, Введение,
Заключение)

Исполнители:

Ведущий научный сотрудник,
д-р. хим. наук, проф.



Ю.М. Атрощенко

(разделы 4.1, 4.2.3, 4.5, 4.6)

Старший научный сотрудник,
канд. биол. наук, доц.



Л.В. Переломов

(разделы 1.1, 2.1, 3.1, 3.3, 3.4, 4.3, 5)

Старший научный сотрудник,
канд. биол. Наук



А.В. Барахов

(раздел 4.4)

Научный сотрудник



Р.В. Симонов

(разделы 1.2, 2.2, 3.2)

Младший научный сотрудник



М.М. Герцен

(разделы 1, 2.3, 5)

Младший научный сотрудник



_____ Т.Е. Сиголаева

(раздел 4.2, 4.3)

Младший научный сотрудник



_____ С.В. Козьменко

(раздел 3, 4.6)

Инженер-исследователь



_____ Т.С. Дудникова

(раздел 2.3, 3.2)

Лаборант-исследователь



_____ Ю.В. Романов

(разделы 1.2, 2.2, 3.2., 4.2)

Реферат

Отчет 87 с., 1 кн. 17 табл., 8 рис., лит. 93 наим.

ТЯЖЕЛЫЕ МЕТАЛЛЫ, ГЛИНИСТЫЕ МИНЕРАЛЫ, АДСОРБЦИЯ, БИОСОРБЦИЯ, ИММОБИЛИЗАЦИЯ БАКТЕРИЙ НА ГЛИНАХ

Целью проекта являлось изучение адсорбционных свойств по отношению к катионам тяжелых металлов (на примере свинца) ряда бактерий, био-минеральных и био-органоминеральных комплексов на основе бентонита, органоглин и бактериальных клеток.

Объектами исследования являлись: бентонит - глинистый минерал группы смектита, органоглины на его основе, клетки бактерий разных родов и сложные комплексы, полученные в результате заселения минерала и органоглин бактериями.

Было исследовано количественное поглощение свинца живыми клетками бактерий рода *Rhodococcus*, а также меди и кадмия представителями рода *Bacillus*. Полученные экспериментальные данные по адсорбции металлов были аппроксимированы уравнениями Ленгмюра и Фрейндиха, получены параметры адсорбции в соответствии с указанными моделями.

Изучено заселение консорциума бактерий на поверхности органоглин, синтезированных с участием анионных, амфотерных и неионогенных поверхностно-активных веществ. Выявлено влияние преадсорбированных органических веществ, служащих источником углерода для бактерий (глюкозы и казаминовых кислот), на иммобилизацию микроорганизмов на поверхности глинистого минерала.

Основным результатом выполнения заключительного этапа поискового проекта явился синтез экологически безопасных органо-минеральных и био-минеральных сорбентов тяжелых металлов на основе глинистых минералов с расширяющейся структурной ячейкой и полярных и неполярных поверхностно-активных веществ различного происхождения, а также почвенных микроорганизмов. Для синтеза были использованы как

одноступенчатые, так и многоступенчатые методы с преадсорбцией органических веществ. Проведена апробация разработанных органоминеральных сорбентов для ремедиации загрязненных пахотных почв разных типов (дерново-подзолистой, выщелоченного чернозема, чернозема обыкновенного) Тульской и Ростовской областей и очистки сточных вод Тульской области. При использовании в количестве менее 3% (по массе) токсические свойства большинства органоглин не проявляются. На снижение содержания токсичных форм свинца под воздействием изучаемых сорбентов оказывают влияние доза загрязнения, время инкубации и тип почвы. Внесение органоглин является в большей степени эффективным для снижения подвижных форм свинца в малобуферных почвах (дерново-подзолистых).

Использование органоглин для очистки сточных вод очистных сооружений канализации приводит к снижению содержания в них тяжелых металлов до уровня, ниже гигиенических нормативов.

Содержание

	Введение	9
1	Синтез и изучение поглощения тяжелых металлов биоминеральными комплексами на основе силикатов с расширяющейся структурной ячейкой и почвенных микроорганизмов	11
	1.1 Литературный обзор. Поглощение тяжелых металлов биоминеральными комплексами на основе глинистых минералов и микроорганизмов	11
	1.2 Объекты и методы исследований	14
	1.2.1 Культивирование микроорганизмов	14
	1.2.2 Сорбционный эксперимент	15
	1.3 Поглощение свинца бентонитом и био-минеральными системами	16
2	Количественное изучение биосорбции и биоаккумуляции тяжелых металлов автохтонными почвенными бактериями	20
	2.1 Литературный обзор. Биосорбция и биоаккумуляция тяжелых металлов микроорганизмами	20
	2.1.1 Основные процессы взаимодействия микроорганизмов и тяжелых металлов	20
	2.1.2 Сущность процесса биосорбции	21
	2.1.3 Сравнение процессов биосорбции и биоаккумуляции	22
	2.1.4 Факторы, влияющие на процессы биосорбции и биоаккумуляции	24
	2.1.5 Изотермы биосорбции	26
	2.1.6 Перспективы использования процессов биосорбции и биоаккумуляции для ремедиации загрязненных экосистем	26
	2.2 Объекты и методы исследований	27
	2.2.1 Микроорганизмы, их идентификация и подготовка к биосорбции	27
	2.2.2 Приготовление растворов металлов	30
	2.2.3 Эксперименты по биосорбции металлов	30
	2.2.4 Аппроксимация экспериментальных результатов по биосорбции и биоаккумуляции тяжелых металлов	30
	2.3 Результаты по биосорбции тяжелых металлов автохтонными почвенными бактериями	31
	2.3.1 Биосорбция меди видами бактерий рода <i>Bacillus</i>	31
	2.3.2 Биосорбция кадмия видами бактерий рода <i>Bacillus</i>	34
3	Изучение влияния преадсорбированных органических веществ на заселение поверхности глинистых минералов микроорганизмами, способными к эффективной биосорбции тяжелых металлов	37

3.1	Литературный обзор. Роль преадсорбированных органических веществ в заселении глинистых минералов микроорганизмами	37
3.1.1	Взаимодействия между глинистыми минералами и бактериями	37
3.1.2	Заселение бактериями глинистых минералов	38
3.1.3	Роль доступных и преадсорбированных на поверхности глинистых минералов веществ в иммобилизации бактерий	40
3.2	Объекты и методы исследований	42
3.2.1	Объекты исследований	42
3.2.2	Иммобилизация консорциума бактерий на поверхности изучаемых сорбентов	44
3.2.3	Колониеобразующий тест	44
3.3	Иммобилизация бактерий на бентоните и органоглинах	45
3.4	Влияние преадсорбированных питательных органических веществ на эффективность инокуляции бактерий на поверхность глинистых минералов	46
4	Апробация разработанных органо-минеральных и био-минеральных сорбентов для ремедиации загрязненных почв и очистки загрязненных вод предприятий Тульской области.	48
4.1	Тяжелые металлы в природных объектах Тульской области	48
4.1.1	Тяжелые металлы в почвах Тульской области	48
4.1.2	Тяжелые металлы в водных объектах Тульской области	50
4.2	Объекты и методы исследований	52
4.2.1.	Изучение подвижных форм металлов в дерново-подзолистой почве и выщелоченном черноземе	52
4.2.2	Изучение содержания непрочно связанных соединений свинца в черноземе обыкновенном под воздействием органоглин методом параллельных экстракций	54
4.2.3	Изучение содержания свинца в сточных водах муниципальных очистных сооружений г. Тулы	58
4.3	Снижение подвижных форм тяжелых металлов в почвах Тульской области при внесении бентонита и органоглины с алкилполиглюкозидом	59
4.4	Изменение содержания непрочно связанных соединений свинца в черноземе обыкновенном под воздействием органоглин методом параллельных экстракций	61
4.5	Снижение концентрации тяжелых металлов в сточных водах очистных сооружений г. Тулы	68
4.6	Практические рекомендации по использованию разработанных органо-минеральных и био-минеральных комплексов в практике охраны природы	69

5 РИД и публикации по теме работы	71
Заключение	76
Список источников	78

Введение

Органоглины – это гибридные материалы, полученные в результате взаимодействия глинистых минералов с поверхностно-активными веществами и/или другими различными органическими соединениями [1]. В большом объеме исследовательских работ показано использование органоглин в качестве армирующих веществ в полимерных нанокompозитах, исходных материалов для фотофизических пленок, реологических агентов и в качестве адсорбентов органических загрязнителей в почве и водных средах. Нами впервые показана эффективность использования органоглин на основе ряда амфотерных и неионогенных ПАВ для поглощения свинца [2] и ПАУ (нафталина, бенз(а)пирена) [3] из растворов.

В многочисленных исследованиях изучена адсорбция тяжелых металлов отдельно глинистыми минералами либо бактериями, но только в небольшом количестве работ оцениваются взаимодействия бактерий и глинистых минералов в контексте иммобилизации металлов [4]. В почвенных системах метаболиты и биопленки, образованные микробами, в значительной степени влияют на формы, токсичность и подвижность тяжелых металлов [5].

Глины пространственно связаны с бактериальными сообществами в естественной среде [6]. Эти ассоциации приписываются как бактериальному аутигенезу глины [7], так и образованию бактериальных биопленок на поверхности глинистых минералов [8]. Эти процессы приводят к образованию ассоциированных с бактериями глинистых минералов, которые представляют собой сложные твердые вещества, состоящие из глинистых минералов, смешанных с неповрежденными и частично разрушенными бактериальными клетками. Свойства комплексов «бактерии-глина» значительно отличаются от свойств их отдельных компонентов и оказывают разнообразное влияние на химическую реактивность тяжелых металлов [9].

Например, присоединение Cd к композитам каолинит/монтмориллонит-бактерии соответствовало аддитивности компонентов [10]. 6%-ное усиление

сорбции Cu и Zn наблюдалось на композите монтмориллонита и бактерий с массовым соотношением 1:1 при pH 5 [11]. Увеличение адсорбции Cu на комплексах монтмориллонит-*Pseudomonas putida* было обнаружено при pH>5,5, тогда как адсорбционная способность снижалась при pH<5,5 [12]. Немногочисленность и противоречивость данных по этому вопросу указывает на необходимость дальнейших исследований, чтобы понять поведение и механизмы взаимодействий Pb в сложных системах.

Для изучения процессов иммобилизации тяжелых металлов продуктами взаимодействий слоистых силикатов и органоглин с бактериальными клетками в 2024 г. были выполнены следующие виды работ:

1. Синтезированы био-минеральные комплексы на основе глинистых минералов группы бентонита и почвенных микроорганизмов.

2. Получены количественные данные о биосорбции и биоаккумуляции тяжелых металлов автохтонными почвенными бактериями.

3. Разработан метод по получению био-минеральных комплексов с преадсорбцией органических веществ и последующим заселением поверхности глинистых минералов микроорганизмами, способными к эффективной биосорбции тяжелых металлов.

4. Апробированы разработанные органо-минеральные и био-минеральные сорбенты для ремедиации загрязненных почв и очистки загрязненных вод предприятий Тульской области.

5. Зарегистрированы объекты интеллектуальной собственности на основе полученных результатов.

6. Разработаны практические рекомендации по использованию разработанных органо-минеральных и био-минеральных комплексов в практике охраны природы.

7. Выполнены индикаторные показатели по публикациям.

8. Подготовлен окончательный отчет по проекту.

1 СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ПОГЛОЩЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ БИО-МИНЕРАЛЬНЫМИ КОМПЛЕКСАМИ НА ОСНОВЕ СИЛИКАТОВ С РАСШИРЯЮЩЕЙСЯ СТРУКТУРНОЙ ЯЧЕЙКОЙ И ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

1.1 Литературный обзор. Поглощение тяжелых металлов био-минеральными комплексами на основе глинистых минералов и микроорганизмов

В природных биокосных системах поведение тяжелых металлов определяется не столько отдельными компонентами этих систем, сколько продуктами их взаимодействия. Это могут быть как агрегаты, возникающие в результате их прямого физического взаимодействия, так и химически или биологически модифицированные поверхности исходных компонентов [13].

Многочисленные химические и физические свойства биопленок на поверхности глинистых минералов обусловлены электростатическими взаимодействиями, образованием водородных связей и действием дисперсионных лондоновских сил, которые являются доминирующими силами среди макромолекул в пределах матрикса биофильма. Тяжелые металлы, присутствующие в природных растворах, взаимодействуют с биопленками на поверхности минералов посредством физических, химических, физико-химических и биологических механизмов [14].

Кроме этого значительное влияние на удержание микроэлементов оказывает доступность реакционных позиций на минеральной поверхности биофильмов [15]. Окислительно-восстановительные условия вблизи клеток по сравнению с раствором также имеют большое значение. Однако уже в такой малокомпонентной системе, как биофильм, из-за сложности взаимодействий и трудностей в анализе микросред распределение, формы и локальная структура сорбционных комплексов металлов, присутствующих как на поверхности биофильма, так и в составе его матрикса, остаются недостаточно изученными [16].

Было изучено поглощение меди и свинца кальциевым бентонитом, живыми и разрушенными в результате автоклавирования клетками бактерий *Bacillus subtilis*, а также в системах, которые содержат бентонит и один из биотических компонентов (клетки или их оболочки) в диапазоне концентраций металлов 25–250 мкМ [13]. Показано, что значительное влияние на поглощение тяжелых металлов указанными сорбентами оказывает кислотность. Максимальная биосорбция меди и свинца живыми клетками *Bacillus subtilis* наблюдалась при pH 6; разрушенные клетки также поглощали наибольшее количество металлов при этом pH.

Биосорбция металлов живыми и разрушенными клетками бактерий (в пересчете на сухое вещество) превышала их поглощение бентонитом. В трехкомпонентных системах, включающих бентонит и клетки бактерий или бентонит и остатки разрушенных клеток, происходило увеличение поглощения Cu и Pb по сравнению с исходным бентонитом. При этом поглощение металлов системой из бентонита и обломков клеток было ниже, чем аддитивно рассчитанная адсорбция элементов индивидуальными компонентами. Аналогичная закономерность наблюдалась для системы из бентонита и живых клеток для Cu и бентонита и живых клеток для Pb при его низких концентрациях в растворе [13].

Walker с соавторами [17] в сорбционном эксперименте изучили поглощение ряда тяжёлых металлов (Ag^+ , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , и Cr^{3+}) оболочками *Escherichia coli* K-12, клеточными стенками *Bacillus subtilis*, смектитом и каолинитом, а также смесью, состоящей из клеточных оболочек и стенок бактерий и глинистых минералов. Ёмкость поглощения для органоминеральной смеси уменьшалась в ряду: клеточные стенки + смектит > клеточные стенки + каолинит > клеточные оболочки + смектит > клеточные оболочки + каолинит и составляла 20-90 % от количества аддитивно рассчитанного поглощения металлов индивидуальными компонентами. Уменьшение ёмкости поглощения было объяснено взаимодействием

органического материала клеточных оболочек и стенок с глинистыми минералами и маскировкой или нейтрализацией в результате этого сорбционных позиций, что подтвердили данные трансмиссионной электронной микроскопии и энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия.

Сравнительное изучение поглощения Cd различными почвенными компонентами и их комбинациями было проведено [18]. Бактериальные клетки *Serratia marcescens* и *Paracoccus sp.* поглощали больше Cd чем глина (монтмориллонит) и песок, когда одинаковое количество компонента (сухой вес) было отдельно инкубировано с металлом. Однако, когда эти три почвенные составляющие были использованы приблизительно в тех количествах, в которых они находятся в почве, наибольшее количество металла поглощал монтмориллонит [18].

Бактерии также поглощали наибольшее количество Cd и в другом исследовании [19], где сравнивалась иммобилизация Cd такими почвенными компонентами как монтмориллонит, гуминовые кислоты, живые и мёртвые клетки *Arthrobacter sp.*, выделенные из почвы.

Специальные многокомпонентные системы (Partitioning in Geobiochemical Systems, PIGS) были использованы для сравнения поглощения металлов различными почвенными компонентами: бактериями, грибами, торфом, глинами и оксидом алюминия в присутствии и отсутствии фульвокислот [16]. Результаты показали, что даже тогда, когда микроорганизмы присутствовали в небольших количествах в составе твёрдой фазы, они вносили значительный вклад в поглощение металлов.

Ряд исследований, использующих этот подход, были выполнены и для изучения водных систем. Calmano et al. [20] сконструировали многокамерное устройство для изучения сорбции и десорбции металлов различными компонентами седиментов. Эта система было больше чем PIGS и состояла из центральной камеры объёмом около 6 литров и шести внешних (по 500 мл),

разделённых друг от друга фильтрами. В этой системе было проанализировано конкурентное поглощение Cu, Cd и Zn между клеточными стенками водоросли *Scenedesmus quadricauda*, бентонитом, оксидом алюминия, оксидом марганца, кварцем и гетитом. Количество указанных компонентов моделировало усреднённый состав седиментов. Исследования показали, что наибольшим сродством к кадмию обладают клеточные стенки водоросли.

В вышеуказанных экспериментальных системах сорбенты использовались разделёнными, между ними либо вообще не существовало взаимодействий, либо эти взаимодействия осуществлялись только посредством раствора. Однако, в реальных почвенных системах физическое взаимодействие между компонентами может значительно влиять на поглощение тяжелых металлов. Как правило, почвенные микроорганизмы находятся в тесном контакте с глинистыми минералами и другими компонентами твёрдой фазы [21], поэтому именно такие агрегаты, а не отдельные компоненты, определяют поглощение микроэлементов в реальных почвах.

1.2 Объекты и методы исследования

В качестве микроорганизмов-биосорбентов тяжелых металлов выбран штамм бактерии *Rhodococcus qingshengii* SS60-2, любезно предоставленный Институтом биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрыбина РАН (г. Пущино).

1.2.1 Культивирование микроорганизмов

Перед началом работы стерилизовали лабораторную посуду, среды для микроорганизмов в стерилизаторе паровом ВК-75-01 (ТЗМОИ, Москва, Россия) в течение 1 часа при $t = 150 - 160^{\circ}\text{C}$ и давлении 1 атм.

Для культивирования микроорганизмов использовали две среды:

1) *Среда ГРМ-агар* (гидролизат рыбной муки) (ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск,

Россия). Состав (г/л): панкреатический гидролизат рыбной муки – 24; экстракт пекарных дрожжей – 2; натрия хлорид – 4; агар микробиологический – $10,0 \pm 2,0$.

2) Среда *ГРМ-бульон* (ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия). Состав (г/л): панкреатический гидролизат рыбной муки – 18,0; натрия хлорид – 2,0.

Посев и культивирование микроорганизмов в жидкой питательной среде осуществляли в качалочных колбах. В колбы вносили 100 мл среды ГРМ-бульон и автоклавировали в паровом стерилизаторе ВК-75-01 (ТЗМОИ, Москва, Россия) в течение 1 часа при $t = 150 - 160^\circ\text{C}$ и давлении 1 атм. После стерилизации в колбу добавляли микроорганизмы и культивировали в шейкере-инкубаторе Biosan ES-20/60 (BioSan, Рига, Латвия) при 180 об/мин при 37°C в течение 72 часов. Далее содержимое в количестве 1 мл переносили в пробирки типа Eppendorf и центрифугировали на центрифуге 5417R (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) в течение 10 минут при 6000 об/мин, при комнатной температуре. После центрифугирования из пробирок отбирали надосадочную жидкость, после чего центрифугировали еще 1 мин. для полного удаления жидкости. Полученный осадок взвешивали и, для получения значения чистой массы, вычитали ранее измеренную массу пустой пробирки. Полученную биомассу микроорганизмов использовали в дальнейших экспериментах.

1.2.2 Сорбционный эксперимент

В 6 конических колб (100мл) вносили 0,2 г бентонита/органоглины. В каждую колбу добавили 10 мл 0,01М р-ра KNO_3 (рН 5) с 0,2г клеток микроорганизмов. Колбы закрывали пленкой. Смесь перемешивали на шейкере в течение 24 часов при 180 об/мин. Через 24 часа в колбы добавляли соответствующее количество растворов 0,01М р-р $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ и 0,01М р-р KNO_3 (рН 5), так, чтобы концентрация Pb составляла от 0,1 до 10 ммоль.

После добавления растворов колбы закрывали пленкой и перемешивали на шейкере в течение 3 часов (180 об/мин). По окончании перемешивания жидкую фазу отделяли центрифугированием (10 минут, 6000 об/мин) и собирали в пробирки.

Концентрацию тяжелых металлов определяли в полученном растворе методом атомно-абсорбционной спектрометрии с пламенной атомизацией проб на спектрометре Analytik Jena ContrAA® 800 F (Analytik Jena AG, Йена, Германия). Количество адсорбированного металла определяли как разницу между исходной и равновесной концентрацией.

1.3 Поглощение свинца бентонитом и био-минеральными системами

Экспериментальные и аппроксимированные моделью Ленгмюра данные по поглощению нитрата свинца изучаемыми сорбентами показаны на рис. 1.

Живые клетки бактерий *Rhodococcus qingshengii* характеризуются наименьшей сорбционной способностью и величиной максимальной адсорбции. Следует учитывать, что речь идет о живой, а не сухой биомассе.

По величине максимальной адсорбции изучаемые сорбенты образуют ряд: органоглина (с алкилполиглюкозидом) > бентонит + клетки бактерий > органоглина + клетки бактерий > бентонит > клетки бактерий. Максимальной поглощающей способностью обладает синтезированная нами органоглина на основе бентонита и алкилполиглюкозида.

Мы видим, что клетки бактерий *Rhodococcus qingshengii*, добавленные к исходному бентониту, увеличивают его сорбционную способность. В то же время микроорганизмы, добавленные к органоглине, очевидно маскируют сорбционные позиции и уменьшают поглощение ею свинца.

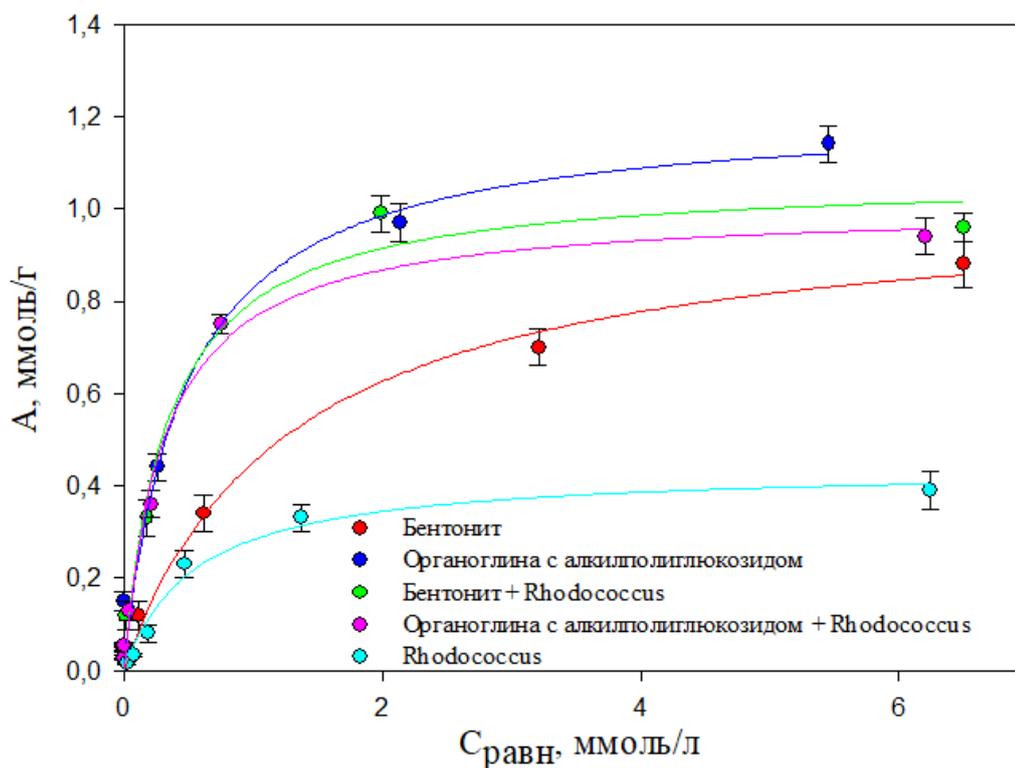


Рисунок 1 – Изотермы адсорбции Ленгмюра ионов Pb^{2+} на изучаемых сорбентах

Параметры адсорбции свинца на изучаемых сорбентах в соответствии с моделью Ленгмюра представлены в табл. 1.

Таблица 1 – Сорбционные параметры процесса сорбции Pb^{2+} по модели Ленгмюра на исходном бентоните/органоглине/микроорганизмах

Сорбент	R	A_{∞} , ммоль/г	K_L , л/ммоль
Бентонит	0,99	$1,02 \pm 0,03$	$1,60 \pm 0,04$
Органоглина с алкилполиглюкозидом	0,99	$1,21 \pm 0,05$	$1,10 \pm 0,05$
Бентонит + <i>Rhodococcus</i>	0,99	$1,13 \pm 0,03$	$1,96 \pm 0,06$
Органоглина с алкилполиглюкозидом + <i>Rhodococcus</i>	0,99	$1,01 \pm 0,01$	$1,15 \pm 0,03$
<i>Rhodococcus</i>	0,99	$0,44 \pm 0,02$	$2,20 \pm 0,05$

Изотермы адсорбции Pb изучаемыми сорбентами по модели Фрейндлиха и параметры адсорбции представлены на рис. 2 и в табл. 2. Для сорбентов, включающих клетки (клетки бактерий, бентонит + клетки, органоглина + клетки), по уравнению Фрейндлиха коэффициент корреляции несколько ниже, что очевидно связано с особенностями сорбции живыми клетками, которые отличаются от свойств минеральных сорбентов, для которых данные уравнения были разработаны.

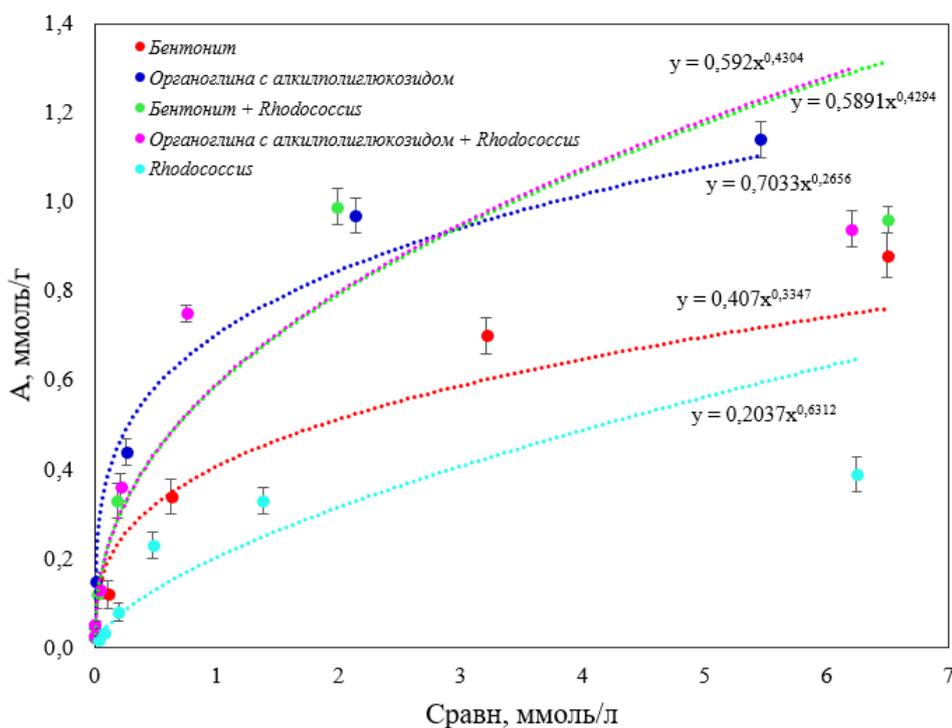


Рисунок 2 – Изотермы адсорбции Фрейндлиха ионов Pb²⁺ на изучаемых сорбентах

Таблица 2 – Сорбционные параметры процесса сорбции Pb^{2+} по модели Фрейндлиха на изучаемых сорбентах

Сорбент	R	Кф, л/ммоль	1/n
Бентонит	0,99	0,407±0,004	0,335±0,003
Органоглина с алкилполиглюкозидом	0,99	0,703±0,004	0,266±0,003
Бентонит + <i>Rhodococcus</i>	0,94	0,589 ± 0,003	0,429 ± 0,004
Органоглина с алкилполиглюкозидом + <i>Rhodococcus</i>	0,93	0,592 ± 0,005	0,430 ± 0,006
<i>Rhodococcus</i>	0,94	0,204 ± 0,008	0,631 ± 0,006

Таким образом, иммобилизация клеток на бентоните, ведет к увеличению его сорбционной способности, что также подтверждается многочисленными литературными данными. В тоже время заселение клетками органоглин снижает их адсорбционную способность по сравнению с органоглиной, но при этом остается выше, чем у бентонита. Налицо сложные взаимодействия между функциональными группами бактериальных оболочек, поверхностью минерала и фрагментов сурфактантов.

2 КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ИЗУЧЕНИЕ БИОСОРБЦИИ И БИОАККУМУЛЯЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ АВТОХТОННЫМИ ПОЧВЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ

2.1 Литературный обзор. Биосорбция и биоаккумуляция тяжелых металлов микроорганизмами

2.1.1 Основные процессы взаимодействия микроорганизмов и тяжелых металлов

Несмотря на незначительное содержание по массе (1–10 т/га в слое 0–15-см почвы), в почвах содержится огромное количество микроорганизмов, которое может достигать миллиардов клеток в одном грамме. Высокая скорость размножения, активный метаболизм и большая реакционноспособная площадь поверхности клеток делает микроорганизмы ведущими участниками биогеохимических процессов, в том числе тяжелых металлов [22].

Можно выделить следующие основные процессы взаимодействия микроорганизмов с ионами тяжелых металлов, имеющие биогеохимическую значимость [23]:

1. Поглощение ионов тяжелых металлов. Поглощение может происходить в ходе биоаккумуляции и биосорбции. Под биоаккумуляцией понимают процесс биологического поглощения элементов по механизму пассивного или активного транспорта с последующим их накоплением в цитоплазме клетки. Биосорбция – это комплекс процессов, происходящих на поверхности клеточной оболочки по механизмам адсорбции, ионного обмена, комплексообразования, микроосаждения и др. В биосорбции не задействован мембранный транспорт и контроль процесса осуществляется непрямыми физико-химическими реакциями в растворе. Биосорбция характерна как для живых, так и для мертвых клеток.

2. Трансформация соединений тяжелых металлов в результате окислительно-восстановительных процессов или в результате алкилирования.

В результате трансформации образуются продукты, значительно отличающиеся по миграционной способности, биологической доступности и токсичности от исходных соединений.

3. Микробиологическая секреция неорганических и органических метаболитов, изменяющих свойства соединений тяжелых металлов, например, сульфидов.

4. Органические вещества, являющиеся продуктом функционирования микроорганизмов, могут изменять подвижность тяжелых металлов за счет образования с ними комплексных соединений. Характеристики этих соединений определяются свойствами и концентрацией исходных компонентов, а также условиями среды. В свою очередь, микробиологическое разложение металлоорганических комплексов также изменяет подвижность соединений металлов.

5. В дополнение к этим процессам прямого взаимодействия микроорганизмы могут влиять на подвижность и биологическую доступность тяжелых металлов косвенно, изменяя свойства других почвенных компонентов и физико-химические условия (кислотность, окислительно-восстановительные условия и т. д.).

2.1.2 Сущность процесса биосорбции

Показано, что в процессе биосорбции происходит эффективное удаление из водных растворов разнообразных ионов металлов и металлоидов, таких как Cd, Cr, Pb, Hg, As и др. [24].

Процесс биосорбции определяется двумя основными группами факторов: 1) поверхностными свойствами клеточной оболочки (заряд, количество и ориентация металл-связывающих функциональных групп); 2) формами химических соединений металлов в реакционном растворе.

За процесс связывания ионов металлов отвечают разнообразные функциональные группы клеточных стенок бактерий: карбоксильные, фосфонатные, аминные и гидроксильные и др. [25].

Было показано, что грамположительные бактерии обладают более высокой сорбционной способностью из-за более толстого слоя пептидогликана с большим количеством функциональных групп [26].

Биосорбция металлов очевидно происходит в несколько этапов. Beveridge и Murray [27] для *Bacillus subtilis* предложили двухэтапный механизм взаимодействия. Вначале происходит электростатическое взаимодействие ионов металлов с функциональными группами на поверхности клеточной стенки. Затем присоединенные металлы могут выступать в качестве центров дальнейшего осаждения и инициации роста агрегатов. Масса таких агрегатов в гидратированном состоянии может достигать массы клетки микроорганизма [28]. Исходно такие осадки высокогидратированы и аморфны, но со временем теряют воду и образуют кристаллическую минеральную фазу.

Продуцируемые микроорганизмами экстрацеллюлярные полимерные вещества (ЭПВ) также содержат способные к ионизации функциональные группы, взаимодействующие с ионами тяжелых металлов [29]. Было показано, что некапсулированные штаммы бактерий поглощают меньше металлов, чем капсулированные ЭПВ [30]. Тонкое исследование происходящих процессов показывает, что связывание металлов ЭПВ происходит преимущественно за счет формирования моодентатных, бидентатных и полидентатных комплексов катионов металлов с анионными группами молекул ЭПВ [31].

Ряд исследований показывают ведущую роль в связывании металлов клеточных компонентов биофильмов [32]. Другие [33] утверждают, что ведущую роль в связывании ионов тяжелых металлов играют ЭПВ. При этом интересно заметить, что наличие полисахаридов ЭПВ, образующих слизи и капсулы, может быть связано с присутствием металлов, поскольку последние выполняют роль кофакторов при их синтезе [31].

2.1.3 Сравнение процессов биосорбции и биоаккумуляции

В сравнении с процессом биосорбции, при которой мертвые бактериальные клетки все еще способны удалять тяжелые металлы, биоаккумуляция характерна только для живых бактериальных клеток. Показано, что биосорбция обладает более высокой сорбционной емкостью по сравнению с биоаккумуляцией [34].

Биоаккумуляция представляет собой более сложный процесс, который связан с внутренней структурой и пространством клетки, генетическими особенностями и клеточными метаболическими процессами. При этом эффективность накопления металлов бактериальным штаммом зависит и от того, откуда бактериальный штамм был выделен – с незагрязненной или загрязненной территории с соответствующим развитием адаптационных механизмов.

В табл. 3 показаны основные различия биосорбции и биоаккумуляции по ряду параметров.

Таблица 3 – Различия между процессом биосорбции и биоаккумуляции

Параметры	Биосорбция	Биоаккумуляция
Общие характеристики	Пассивный процесс	Активный процесс
	Ионы, связанные на поверхности ионов	Внутриклеточное накопление ионов
	Быстрота и простота	Сложный, длительный процесс
	Не требует метаболической энергии	Могут требоваться источники энергии для транспорта
	Осуществляется как живой, так и мертвой биомассой	Осуществляется только живыми клетками

	Отсутствие чувствительности к условиям выращивания	Ингибируется недостатком питательных веществ, низкой температурой и токсичностью металлов
	Свежая питательная среда не требуется	Потребность в свежей питательной среде
	Биомасса может быть регенерирована и использована повторно	Из-за межклеточного накопления повторное использование для дальнейших целей ограничено
pH и температура	Может происходить в широком диапазоне pH и температуры	Чувствительность к pH и изменению температуры
Селективность	Может быть увеличена путем модификации биомассы	Ниже процесса биосорбции

2.1.4 Факторы, влияющие на процессы биосорбции и биоаккумуляции

Кислотность среды. Влияние pH на поглощение зависит от используемой концентрации тяжелого металла. Например, при низких концентрациях поглощение Pb клетками *Pseudomonas atlantica* увеличивалась с увеличением pH, а при высоких концентрациях металла, его поглощение не зависела от pH [35]. Аналогичный эффект наблюдается не только при высоких концентрациях изучаемого металла, но и при увеличении ионной силы [36].

Характер pH-зависимого поглощения тяжелых металлов бактериями может быть совершенно разным для катионов и анионов, а также микроорганизмов [23]. Предполагая аналогию между биологическими и минеральными поверхностями, можно утверждать, что с увеличением pH

происходит депротонизация функциональных групп, входящих в состав клеточных оболочек, что способствует связыванию катионов. Однако в ряде случаев поглощение вновь снижается при высоких рН.

В некоторых работах показано, что в щелочной среде бактерии экскретируют органические метаболиты, которые выступают в качестве дополнительных адсорбентов и частично связывают металлы, снижая поглощение на поверхности самих клеток. Кроме этого, подщелачивание изменяет свойства поверхности клеточных оболочек и их способность поглощать металлы. Наконец, при высоких рН могут образовываться нейтральные и анионные комплексные соединения металлов, которые имеют меньшее химическое сродство к клеточной поверхности, чем положительно заряженные комплексы и свободные ионы.

Ионная сила. Ионная сила влияет на поглощение тяжелых металлов за счет изменения активности ионов в растворе, а также поверхностного заряда и емкости двойного диффузного слоя гидратированных клеток [37]. Авторами [38] было показано, что клеточные стенки грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* и *Micrococcus lysodeikticus* изменяли свои размеры в ответ на изменение ионной силы и кислотности раствора.

Ряд авторов утверждает, что наибольшее поглощение тяжелых металлов клетками происходит при низкой ионной силе раствора. Так количество Pb^{2+} , поглощенного морской микроскопической водорослью *Dunaliella tertiolecta*, увеличивалось в условиях более низкой солености [37]. Cu и, возможно, Zn поглощались клетками *Saccharomyces cerevisiae* в большей степени в отсутствие буферного раствора [39]. Десорбция Ni и Zn с поверхности клеток бактерий *Thiothrix* увеличивалась при увеличении ионной силы раствора [40].

Влияние ионной силы на поглощение анионов отличается от влияния на поглощение катионов. Так отмечено, что при увеличении содержания NaCl в растворе происходит увеличение поглощения TcO_4 цианобактериями [41].

Окислительно-восстановительный потенциал. Степень окисления металлов, в частности Fe, существенно влияет на его связывание анионными бактериальными полимерами, входящими в состав капсул ЭПВ [42]. Так добавление FeCl₃ к капсулам *Bacillus licheniformis* в аэробных условиях приводило к образованию на поверхности капсул аморфного ферригидрата ржавого цвета. Добавление FeCl₂ в анаэробных условиях вело к существенно меньшему поглощению Fe, при этом, судя по окраске, образования ферригидрата не происходило.

Скорость поглощения Cr (VI) из раствора *Saccharomyces cerevisiae* в анаэробных условиях была несколько выше, чем в аэробных [43]. В аэробных условиях факультативно аэробные штаммы морских грамотрицательных бактерий обычно поглощали больше Cd металла, чем это делали аэробные штаммы [44].

2.1.5 Изотермы биосорбции

Наиболее часто для описания поглощения тяжелых металлов бактериями используют уравнения Ленгмюра и Фрейндлиха. В дополнение к этим уравнениям иногда используют модель Брунауэра, Эммета и Теллера (БЭТ). Эта изотерма представляет многослойную адсорбцию на гетерогенных сайтах с различным сродством к связыванию и предполагает, что изотерма Ленгмюра описывает процессы в каждом слое [45]. Уравнения БЭТ и уравнение Фрейндлиха наилучшим образом описывают биосорбцию при низкой концентрации адсорбент/адсорбат [21]. Также для описания биосорбции используется Неидеальная модель конкурентной адсорбции (НИКА/NICA), представляющая собой многокомпонентную модель конкурентного поглощения, которая учитывает ионспецифическую неидеальность адсорбата и химическую гетерогенность сорбента [46].

2.1.6 Перспективы использования процессов биосорбции и биоаккумуляции для ремедиации загрязненных экосистем

Благодаря большому физиологическому разнообразию различных штаммов бактерий они являются ценными объектами для разработки технологий биоремедиации загрязненных объектов окружающей среды.

Микробная генная инженерия позволяет создать штаммы микроорганизмов, обладающих повышенными адаптивными возможностями к загрязнителю и способностью накапливать тяжелые металлы [47].

Иммобилизация бактериальной биомассы на подходящем носителе может быть использована для улучшения пористости, физической и химической стабильности сорбентов [48].

Особый интерес представляют бактерии экстремофилы, поскольку они обладают уже готовым набором генетических и метаболических возможностей для использования в качестве биосорбентов в загрязненных средах.

2.2 Объекты и методы исследований

2.2.1 Микроорганизмы, их идентификация и подготовка к биосорбции

В настоящем исследовании использовались штаммы бактерий рода *Bacillus*, выделенные из серой лесной пахотной почвы (Веневский район Тульской области). Отобранную почву очищали от растительных остатков и других включений, перетирали в фарфоровой ступке и пропускали через сито с диаметром отверстий 3 мм.

Для экстракции микроорганизмов из почвы подготовленную навеску почвы 1 г, освобожденную от посторонних включений и крупных корней, с добавлением 9 мл стерильной воды тщательно растирали в фарфоровой ступке в течение 10 минут для десорбции клеток с поверхности почвенных агрегатов. Для перехода максимального количества бактериальных клеток с поверхности твердой фазы в раствор после растирания суспензия тщательно встряхивалась на орбитальном шейкере S-3M.A10 (SIA "ELMI", Рига, Латвия) при 200

об/мин в течение 30 мин. Далее 1 мл полученной суспензии переносили стерильной пипеткой из колбы в пробирку с 9 мл стерильной воды и взбалтывали на вортексе MX-S (DLab, Пекин, Китай), после чего таким же образом 1 мл полученной смеси из пробирки переносили в следующую пробирку. Всего было проведено четыре разведения.

Перед началом работы стерилизовали лабораторную посуду и среды для микроорганизмов в стерилизаторе паровом ВК-75-01 (ТЗМОИ, Москва, Россия) в течение 1 часа при $t = 150-160^{\circ}\text{C}$ и давлении 1 атм.

Для экспериментов использовали следующие среды:

Селективный для рода *Bacillus* Агар желточный с маннитом, полимиксином и феноловым красным - МУР Agar (Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar, Thermo Fisher Scientific). Состав (г/л): мясной экстракт – 1, пептон – 10, маннитол – 10, натрия хлорид – 10, агар – 12, феноловый красный – 0,025.

Среда ГРМ-бульон (ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия). Состав (г/л): панкреатический гидролизат рыбной муки – 18,0; натрия хлорид – 2,0.

Среда ГРМ-агар (гидролизат рыбной муки) (ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия). Состав (г/л): панкреатический гидролизат рыбной муки – 24; экстракт пекарных дрожжей – 2; натрия хлорид – 4; агар микробиологический – $10,0 \pm 2,0$.

Методом прямого высева экстракта из почвы на селективный МУР агар были визуально обнаружены специфические колонии видов, относящихся к роду *Bacillus* (грубые и сухие с фиолетово-розовым фоном, окружённые осадком яичного желтка). Далее, бактерии из колоний, различающихся по фенотипу, пересеивали на селективную среду до формирования отдельных колоний, после чего штаммы выращивали и поддерживали на питательном

ГРМ-бульоне для дальнейшей идентификации молекулярно-генетическими методами и сорбционных экспериментов.

Из отобранных штаммов выделили геномную ДНК с помощью Quick-DNA Miniprep Kit (Zymo Research, USA). Выделенную ДНК использовали для амплификации гена 16SrRNA. ПЦР проводили со следующими праймерами: прямой 27f 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' и обратный 1492r 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3' (табл. 4).

Таблица 4 – Праймеры, использованные в работе для идентификации бактерий

Целевой белок (ген)	Название праймера	Нуклеотидная последовательность праймера (5'–3')	Т отжига праймера, °С	Размер ПЦР-продукта, п.н.
Малая субъединица рРНК (<i>rrs</i>)	27F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	55	1465
	1492R	GGTTACCTTGTTACGACTT		

Амплификацию гена 16S рРНК осуществляли на приборе GeneAmp PCR System 9700 («Applied Biosystems», США). Далее с ПЦР-продуктами проводили сиквенс по Сэнгеру с использованием вышеуказанных праймеров. Секвенирование проводили на автоматическом секвенаторе ABI Prism 373 3130XL («Applied Biosystems», США). Предварительный филогенетический скрининг сходства нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК осуществляли в базе данных GenBank database, National Centre for Biotechnology Information (NCBI), с помощью пакета программ Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Для более точного определения филогенетического положения исследуемого штамма полученную последовательность гена 16S рРНК выравнивали с соответствующими последовательностями ближайших видов бактерий с помощью программы CLUSTAL W.

Результаты филогенетического анализа последовательностей гена 16S рРНК показали, что выделенные штаммы *Bacillus* относятся к видам: *Bacillus stratosphericus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus atrophaeus*.

2.2.2 Приготовление растворов металлов

Исходные растворы (10 мМ) Cu(II) и Cd(II) готовили путем растворения аналитической чистоты $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ в деионизированной воде. Перед смешиванием с биосорбентами исходные растворы разбавляли до необходимой концентрации.

2.2.3 Эксперименты по биосорбции металлов

Эксперименты по биосорбции проводили с 0,1 г живых клеток, полученных путем отделения от питательной среды при центрифугировании при 6000 оборотах/минуту в течение 15 минут, и трех промывок деионизированной водой с последующим центрифугированием. Для эксперимента использовали пластиковые пробирки объемом 50 мл, содержащие 10 мл рабочего раствора. Затем пробирки встряхивали на орбитальном шейкере со скоростью 180 об/мин в течение 3 часов при комнатной температуре (24-25°C). В качестве фонового электролита для всех экспериментов использовали нитрат калия (0,01 М) с рН 5. По окончании эксперимента образцы центрифугировали при 10000 оборотах в минуту в течение 10 мин. Определяли концентрацию тяжелых металлов в полученном супернатанте методом атомно-абсорбционной спектроскопии с пламенной атомизацией проб на спектрометре Analytik Jena ContrAA® 800 F (Analytik Jena AG, Йена, Германия). Количество адсорбированного металла определяли как разницу между исходной и равновесной концентрацией.

2.2.4 Аппроксимация экспериментальных результатов по биосорбции и биоаккумуляции тяжелых металлов

Аппроксимацию полученных данных по поглощению тяжелых металлов биомассой видов бактерий рода *Bacillus* проводили с использованием моделей Ленгмюра и Фрейндлиха.

Для обработки экспериментальных данных процессов адсорбции в рамках модели Ленгмюра использовали уравнение (1.1).

$$A = A_{\infty} \frac{K_L C_p}{1 + K_L C_p} \quad (1.1)$$

где A – количество поглощенных катионов, мг/г; A_{∞} – величина максимальной адсорбции элемента, ммоль/г; K_L – константа Ленгмюра, л/ммоль; C_p – концентрация элемента в равновесном растворе, ммоль/л.

Двухпараметрическая сорбционная модель Фрейндлиха описывается экспоненциальным уравнением (1.2):

$$A = K_F C_p^{1/n} \quad (1.2)$$

где A – количество поглощенных катионов, ммоль/г; K_F – константа Фрейндлиха, л/ммоль; C_p – концентрация элемента в равновесном растворе, ммоль/л; $1/n$ – эмпирический показатель степени.

Построение экспериментальных кривых и их аппроксимация были выполнены в статистической программе «SigmaPlot 12.5» (Systat Software, США) и графическом пакете программы «Origin 2018» (OriginLab, США).

2.3 Результаты по биосорбции тяжелых металлов автохтонными почвенными бактериями

2.3.1. Биосорбция меди видами бактерий рода Bacillus

Была изучена биосорбция меди пятью видами бактерий из рода *Bacillus*: *Bacillus stratosphericus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides* и *Bacillus pumilus* при исходном рН сорбционного раствора 5 и в диапазоне концентраций 0,02-1 ммоль/л. Экспериментальные данные были аппроксимированы моделями Ленгмюра и Фрейндлиха. Изотермы адсорбции по уравнению Ленгмюра и Фрейндлиха показаны на рис. 3 и 4.

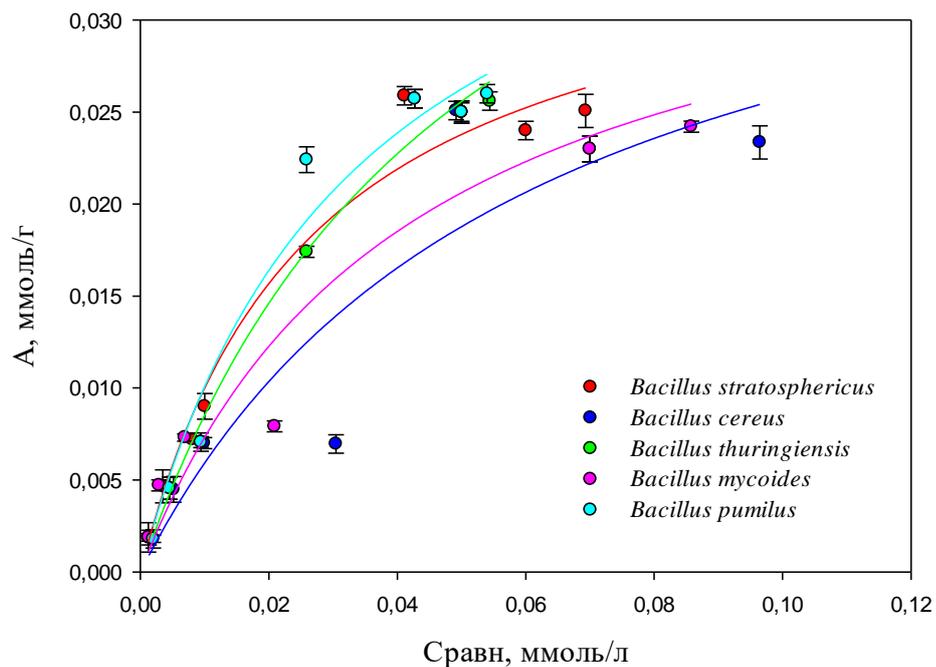


Рисунок 3 – Изотермы адсорбции Ленгмюра ионов Cu^{2+} на микроорганизмах рода *Bacillus*

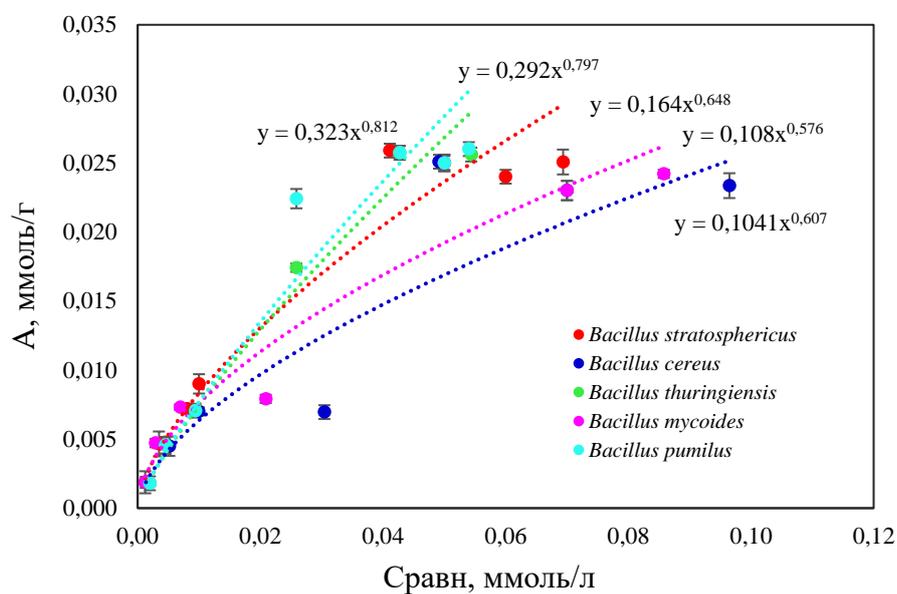


Рисунок 4 – Изотермы адсорбции Фрейндлиха ионов Cu^{2+} на микроорганизмах рода *Bacillus*

Полученные параметры адсорбции по уравнению Ленгмюра и уравнению Фрейндлиха приведены в табл. 5 и 6.

Таблица 5 – Параметры процесса адсорбции Cu^{2+} по модели Ленгмюра на микроорганизмах рода *Bacillus*

Сорбент	R	A_{∞} , ммоль/г	K_L , л/ммоль
<i>Bacillus stratosphericus</i>	0,98	$0,036 \pm 0,005$	$38,02 \pm 0,05$
<i>Bacillus cereus</i>	0,92	$0,041 \pm 0,007$	$16,86 \pm 0,08$
<i>Bacillus thuringiensis</i>	0,99	$0,051 \pm 0,002$	$20,03 \pm 0,07$
<i>Bacillus mycoides</i>	0,96	$0,038 \pm 0,003$	$24,04 \pm 0,04$
<i>Bacillus pumilus</i>	0,98	$0,044 \pm 0,005$	$29,85 \pm 0,05$

Таблица 6 – Параметры адсорбции Cu^{2+} по модели Фрейндлиха на микроорганизмах рода *Bacillus*

Сорбент	R	Кф, л/ммоль	1/n
<i>Bacillus stratosphericus</i>	0,97	$0,164 \pm 0,003$	$0,648 \pm 0,004$
<i>Bacillus cereus</i>	0,91	$0,104 \pm 0,008$	$0,607 \pm 0,005$
<i>Bacillus thuringiensis</i>	0,99	$0,292 \pm 0,004$	$0,797 \pm 0,003$
<i>Bacillus mycoides</i>	0,96	$0,108 \pm 0,005$	$0,576 \pm 0,003$
<i>Bacillus pumilus</i>	0,96	$0,323 \pm 0,004$	$0,812 \pm 0,004$

Процесс биосорбции меди удовлетворительно описывается (с высокими коэффициентами корреляции) как уравнением Ленгмюра, так и уравнением Фрейндлиха. В выбранном для эксперимента интервале исходных концентраций величины максимальной (предельной) адсорбции всех видов приблизительно равны. Наибольшее значение максимальной адсорбции меди характерно для вида *Bacillus thuringiensis*. Константа Ленгмюра минимальна для вида *Bacillus cereus* (16,86), максимальна у вида *Bacillus stratosphericus* (39,02).

В соответствии с уравнением Фрейндлиха величина Кф, являющаяся мерой поглотительной способности сорбента, изменяется в ряду видов: *Bacillus cereus* = *Bacillus mycoides* < *Bacillus stratosphericus* < *Bacillus*

thuringiensis < *Bacillus pumilus*. Величина параметра $1/n$ для анализируемых биосорбентов варьирует в диапазоне от 0,576 до 0,812.

2.3.2 Биосорбция кадмия видами бактерий рода *Bacillus*

Биосорбция кадмия была изучена на примере двух видов бактерий рода *Bacillus*: *Bacillus atrophaeus* и *Bacillus thuringiensis* при исходном pH сорбционного раствора 5 и в диапазоне концентраций 10-250 мг/л. Экспериментальные данные были аппроксимированы моделями Ленгмюра и Фрейндлиха. Изотермы адсорбции по уравнению Ленгмюра и Фрейндлиха показаны на рис. 5 и 6.

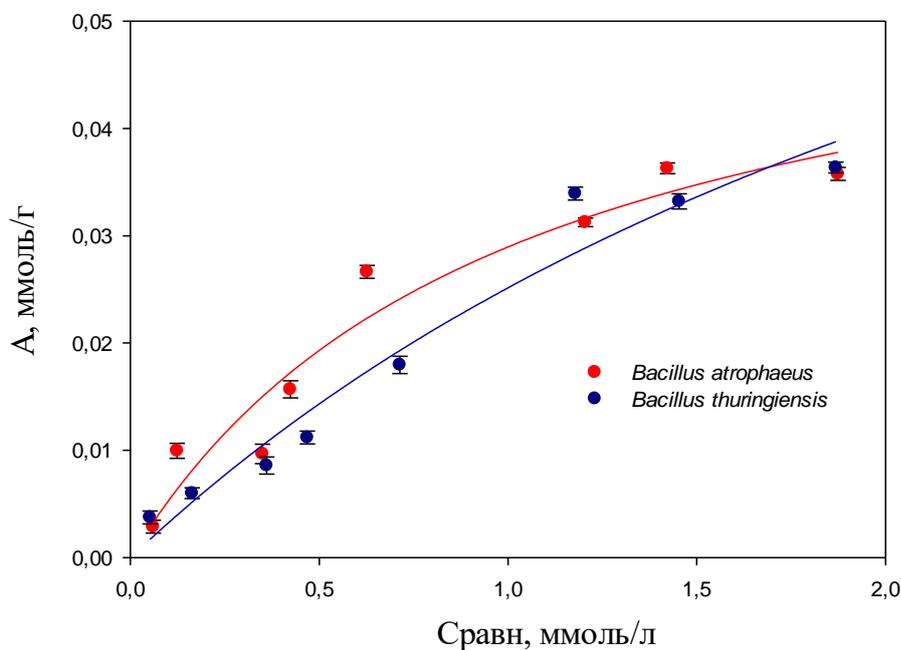


Рисунок 5 – Изотермы адсорбции Ленгмюра ионов Cd^{2+} на микроорганизмах рода *Bacillus*

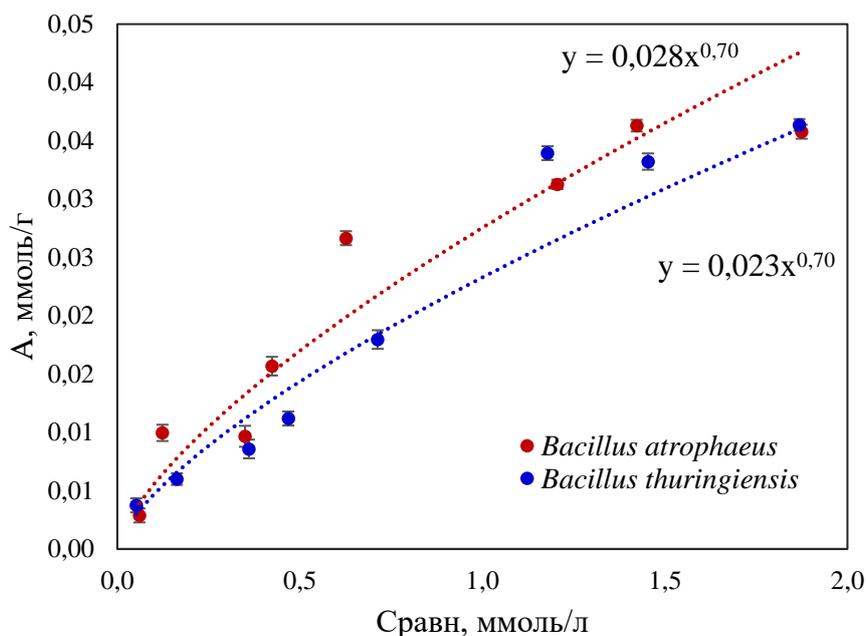


Рисунок 6 – Изотермы адсорбции Фрейндлиха ионов Cd^{2+} на микроорганизмах рода *Bacillus*

Полученные параметры адсорбции по уравнению Ленгмюра и уравнению Фрейндлиха приведены в табл. 7 и 8.

Таблица 7 – Параметры адсорбции Cd^{2+} по модели Ленгмюра на микроорганизмах рода *Bacillus*

Сорбент	R	A_{∞} , ммоль/г	K_L , л/ммоль
<i>Bacillus atrophaeus</i>	0,97	$0,06 \pm 0,01$	$0,99 \pm 0,01$
<i>Bacillus thuringiensis</i>	0,98	$0,10 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,03$

Таблица 8 – Параметры адсорбции Cd^{2+} по модели Фрейндлиха на микроорганизмах рода *Bacillus*

Сорбент	R	K_f , л/ммоль	$1/n$
<i>Bacillus atrophaeus</i>	0,96	$0,028 \pm 0,001$	$0,70 \pm 0,01$
<i>Bacillus thuringiensis</i>	0,97	$0,023 \pm 0,003$	$0,70 \pm 0,09$

Биосорбция кадмия также хорошо описывается (с высокими коэффициентами корреляции) как уравнением Ленгмюра, так и уравнением Фрейндлиха. Значение расчетной максимальной адсорбции выше у *Bacillus thuringiensis* (0,10 ммоль/г) по сравнению с *Bacillus atrophaeus* (0,06 ммоль/г), при этом константа Ленгмюра наоборот выше у *Bacillus atrophaeus* (0,99 л/моль). В соответствии с уравнением Фрейндлиха параметры адсорбции двух видов различаются незначительно.

Поскольку изначально модели адсорбции были разработаны для несколько иных объектов, их следует интерпретировать с большой осторожностью применительно к таким сложным биологическим системам, как клетки и биопленки микроорганизмов. Необходимо избегать механических выводов даже при удовлетворительном описании процесса биосорбции любой из адсорбционных моделей.

Полученные результаты нашли отражение в зарегистрированных базах данных (правообладатель – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого"):

1. База данных «**Биосорбция ионов кадмия штаммами рода *Bacillus***». Атрощенко Ю.М., Барахов А.В., Бурачевская М.В., Герцен М.М., Коцарев В.И., Козьменко С.В., Минкина Т.М., Переломов Л.В. Свидетельство о регистрации базы данных RU 2024624217, 27.09.2024. Заявка от 24.09.2024.
2. База данных «**Биосорбция ионов меди штаммами рода *Bacillus***». Барахов А.В., Бурачевская М.В., Горовцов А.В., Жумбей А.И., Козьменко С.В., Минкина Т.М., Переломов Л.В., Федоренко Е.С., Атрощенко Ю.М. Свидетельство о регистрации базы данных RU 2023623078, 11.09.2023. Заявка № 2023622777 от 28.08.2023.

3 ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕАДСОРБИРОВАННЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА ЗАСЕЛЕНИЕ ПОВЕРХНОСТИ ГЛИНИСТЫХ МИНЕРАЛОВ МИКРООРГАНИЗМАМИ, СПОСОБНЫМИ К ЭФФЕКТИВНОЙ БИОСОРБЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

3.1 Литературный обзор. Роль преадасорбированных органических веществ в заселении глинистых минералов микроорганизмами

3.1.1 Взаимодействия между глинистыми минералами и бактериями

Свойства и функции природных и антропогенных биокосных систем в значительной степени определяются сложными взаимодействиями между минералами, входящими в их состав, и микроорганизмами. Влияние минералов и микроорганизмов друг на друга является двусторонним. С одной стороны, микроорганизмы воздействуют на минералы, изменяя свойства их поверхности, участвуя в выветривании или, наоборот, внося вклад в минералообразование. С другой стороны, минералы оказывают влияние на микроорганизмы и их метаболизм, причём могут делать это как напрямую, так и опосредованно [49]. Прямое воздействие сводится к непосредственному взаимодействию микроорганизмов и поверхностей минералов. Опосредованное влияние заключается в изменениях минералами среды обитания микроорганизмов. Изменения микросреды обитания могут заключаться в адсорбции продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, загрязнителей, которые могут негативно влиять на жизнедеятельность бактерий [23], а также в поддержании оптимального уровне таких важных для микроорганизмов факторов как содержание питательных веществ, влажность, кислотность и т.д. [50].

Таким образом, взаимодействия между глинистыми минералами и бактериями могут быть самыми разнообразными [51,52], но, очевидно, не все из них достаточно широко распространены в биосфере и имеют

биогеохимическое значение.

3.1.2 Заселение бактериями глинистых минералов

Большинство бактерий в природе существуют в форме биопленок (биофильмов) [53]. Биопленка - это структурно-функционально организованное сообщество бактерий, находящееся внутри полимерного вещества, синтезированного членами сообщества, и прикрепленное к какой-либо поверхности (минеральной, органической, биологической) [54]. Таким образом, бактерии предпочитают существовать прикрепленными на поверхностях, а не в планктонной форме в окружающей водной среде.

Механизмы прикрепления бактерий и образования биофильмов могут быть описаны следующим образом. Исходно планктонные клетки микроорганизмов перемещаются из объема жидкости в приповерхностный (кондиционируемый поверхностью) слой жидкости либо физическими силами (такими как гравитационные силы, броуновское движение, силы Ван-дер-Ваальса, поверхностный электростатический заряд, гидрофильно-гидрофобные взаимодействия и др.) [55], либо за счет работы бактериальных придатков.

Также возможно перемещение в ходе хемотаксиса и гаптотаксиса [56]. На поверхности глинистых минералов могут адсорбироваться различные нутриенты, которые привлекают к себе бактериальные организмы.

Многочисленные физические и химические свойства поверхности, приповерхностной среды и бактериальной оболочки (наличие функциональных групп, доступная энергия, заряд, геометрия поверхности, температура, давление и др.) являются локальными переменными, которые влияют на прикрепление бактериальных клеток [57].

Адгезия клеток микроорганизмов к поверхности глинистых минералов является сложным процессом и часто включает несколько этапов. Ряд авторов [58] считают, что процесс прикрепления бактериальной клетки к минеральной поверхности является двухэтапным. Вначале происходит потенциально

обратимое физико-химическое взаимодействие, а затем – молекулярное и клеточное, когда молекулярно-специфические реакции между клеточными структурами (в том числе – пиями, капсулами, слизями) и поверхностью минерала становятся преобладающими. Во время второго этапа клетка довольно прочно прикрепляется к поверхности минерала.

Считается, что поверхностные структуры микроорганизмов преодолевают физические отталкивающие силы двойного электрического слоя [59]. Далее придатки клеток вступают в контакт с кондиционируемым поверхностью слоем, стимулируя химические реакции (окисление, гидратация и др.) [60], которые укрепляют связь клеток с поверхностью. Некоторые авторы указывают, что адгезия микроорганизмов в значительной степени зависит от гидрофобно-гидрофильных свойств взаимодействующих поверхностей [61].

Изучение иммобилизации клеток микроорганизмов на поверхности ряда минералов показало, что прикрепление бактерий зависит от pH, уменьшаясь с изменением кислотности с 5.5 до 9. Количество Mg^{2+} , содержащегося в минерале, было важной характеристикой для иммобилизации клеток [62].

После обратимого прикрепления и необратимой фиксации происходит формирование микроколоний – отдельных скоплений прикрепленных клеток микроорганизмов. На этом этапе микроорганизмы активно размножаются, а выделяемый матрикс удерживает колонию вместе. Принято называть этот этап формирования биофильма стадией созревания I. Разрастаясь и увеличиваясь в размерах, колонии сливаются и образуют зрелую биопленку, характеризующуюся сложной трехмерной структурой. Образующийся единый внеклеточный матрикс со стабильной внутренней средой защищает колонию от неблагоприятных воздействий (стадия созревания II). Он может служить субстратом для прикрепления других бактерий и выступать в качестве ядра для образования минералов. При исчерпании ресурсов внутри биофильма бактерии могут покинуть его и переходить к существованию в планктонной

форме (стадия дисперсии). На этой стадии от биофильма периодически отрываются отдельные клетки, которые способны прикрепиться к новой поверхности и образовать новую колонию [63].

3.1.3 Роль доступных и преадсорбированных на поверхности глинистых минералов веществ в иммобилизации бактерий

Многими авторами показано, что взаимодействие глин с микроорганизмами может приводить к стимулированию процессов их жизнедеятельности – увеличению образования биомассы и скорости роста бактерий, эффективности использования субстратов, более активному дыханию, синтезу ферментов и метаболитов [51]. Особенно эти процессы выражены при взаимодействии с монтмориллонитом, очевидно, из-за его набухаемости и большей емкости по отношению к органическим и неорганическим веществам [64].

Однако, Stotzky [49] указывает, что основное значение для формирования благоприятной для бактерий среды имеет именно водоудерживающая способность глинистых минералов. Возможно, главным ресурсом, привлекающим микроорганизмы к глинам в почвах, является вода. Большинство природных и пахотных почв, за исключением коротких периодов после дождя, таяния снега или орошения, в основном своем объеме являются вододефицитными для микроорганизмов. Из всех почвенных частиц главным образом феллосиликаты благодаря своей большой гидрофильной поверхности удерживают достаточное количество воды для поддержания роста бактерий. Вода удерживается в порах всех глинистых минералов, однако максимальное ее количество содержится в набухающих трехслойных глинистых минералах, откуда она может быть извлечена бактериями.

Тем не менее, довольно распространена точка зрения, что глинистые минералы, обладая высокой емкостью поглощения, концентрируют и органические вещества на своей поверхности, где они достигают достаточно высоких уровней, чтобы поддерживать рост микробов. Частицы

филлосиликатов в почве всегда покрыты органическими пленками, образуя органо-минеральные структуры [51,65]. Внешняя и внутренняя поверхность филлосиликатов – гидрофильная и полярная. Это облегчает смачивание и взаимодействие с их поверхностями низкомолекулярных и высокомолекулярных органических соединений, содержащих полярные группы. В то же время полярность силикатной поверхности затрудняет взаимодействие монтмориллонита с неполярными и слабополярными веществами [66].

Однако существует и противоположная точка зрения, которая говорит, что питательные вещества на поверхности глин не поддерживают рост бактерий в отсутствие экзогенных субстратов. Так образцы разнообразных глинистых материалов – каолинита, монтмориллонита, палыгорскита, содержащие органический углерод и азот на своей поверхности не влияли на рост бактерий [49]. Когда разнообразные органические субстраты, такие как белки, пептиды, аминокислоты, полисахариды, нуклеиновые кислоты и нуклеотиды адсорбировались глинистыми минералами, их доступность для микробов обычно снижалась [49]. Т.е. наличие органических веществ на поверхности глинистых минералов имеет значение для роста микроорганизмов только при их доступности, т.е. при относительно слабой связи с поверхностью минерала, либо наличии у бактерий специальных механизмов, увеличивающих доступность. Кроме того, в природных почвенных системах глинистые минералы могут аккумулировать на своей поверхности и токсические органические вещества [67].

Взаимодействия микроорганизмов с глинами могут быть не только опосредованы органическим веществом, но и наоборот – процессы взаимодействия органического вещества с поверхностями глинистых минералов могут управляться микроорганизмами. При этом микробиологическая иммобилизация органического вещества на минералах может приводить к частичному изменению характера поверхности глин с

гидрофильной на гидрофобную и способствовать поглощению других органических молекул. Прочное закрепление органических молекул предотвращает их перенос и минерализацию, что имеет огромное значение для гумусообразования.

Таким образом, вопрос о влиянии преадсорбированных органических веществ на иммобилизацию бактерий на глинистых минералах остается дискуссионным.

3.2 Объекты и методы исследований

3.2.1 Объекты исследований

Для эксперимента по иммобилизации бактериальных клеток и синтеза органоглин был использован бентонит Саригюхского месторождения (Армения). Образцы минерала любезно предоставлены компанией BentoGroupMinerals, Москва. Он характеризуется следующим оксидным составом: SiO_2 - 58,3%, Al_2O_3 - 14,3%, Fe_2O_3 - 4,4%, MgO - 3,6%, Na_2O - 2,3%, K_2O - 1,2%, CaO - 2,1%. Емкость катионного обмена минерала составляет 105 мг экв/100 г. Минерал имеет рН водной суспензии - 9,6. Данные рентгенодифрактометрического анализа показывают высокое содержание в бентонитовой глине монтмориллонита (12,49 А), незначительные примеси кварца (3,32 А) и полевых шпатов (3,20 А).

Для синтеза органоглин использовали моноионную натриевую форму бентонита. Синтез органоглин проводили по следующей методике: 1 г соответствующего ПАВ был растворён в 95 мл деионизированной воды, после чего в раствор было добавлено 5 г минерала. Смесь была тщательно размешана стеклянной палочкой, после чего встряхивалась на орбитальном шейкере в закрытой колбе при частоте 180 движений в минуту в течение 24 часов при температуре 22-23°C. После этого органоглина и жидкая фаза были разделены центрифугированием при 9000 оборотов/минуту в течение 15 минут с последующей декантацией надосадочной жидкости.

Осадок был трижды промыт в 40 мл деионизированной воды в центрифужных пробирках при тщательном размешивании стеклянной палочкой в течение 60 секунд. Отделение промывных вод проводили центрифугированием при 9000 оборотов/минуту в течение 15 минут с последующий декантацией надосадочной жидкости. После объединения осадков в чашке Петри, органоглину сушили при 60°C до постоянной массы. После измельчения органоглины в агатовой ступке полученный материал хранили в герметичных бюксах с притертой крышкой в эксикаторе.

Для экспериментов по иммобилизации консорциума бактерий на органоглинах были использованы следующие органоглины:

1. Бентонит (исходный)
2. Органоглина с ПАВ-1 (с кокоиминодипропионатом натрия, амфотерным ПАВ)
3. Органоглина с ПАВ-2 (с лаураминоксидом, неионогенным ПАВ)
4. Органоглина с ПАВ-3 (с диэтаноламидом кокосового масла, неионогенным ПАВ)
5. Органоглина ПАВ-5 (с кокоамфодиацетатом натрия, амфотерным ПАВ)
6. Органоглина ПАВ-7 (с алкилполиглюкозидом, неионогенным ПАВ)
7. Органоглина ПАВ-8 (с додецилсульфатом натрия, анионным ПАВ)
8. Органоглина ПАВ-9 (с сунаталом, анионным ПАВ)

Для получения образцов глинистых минералов с преадсорбированными питательными органическими веществами навески бентонита смешивали с 25% раствором глюкозы или 5% раствором казаминовых кислот в соотношении 1:9. После инкубации при встряхивании в течение 3 часов раствор центрифугировался, жидкость декантировалась, оставшаяся масса бентонита высушивалась при комнатной температуре.

Инокуляция консорциума микроорганизмов осуществлялась на следующие образцы:

1. Бентонит
2. Бентонит + глюкоза
3. Бентонит+казаминовые кислоты

Для изучения иммобилизации на поверхности бентонита, бентонита с преадсорбированными органическими питательными веществами и органоглин были выбраны металлоустойчивый штамм рода *Bacillus* и два металлоустойчивых штамма, относящиеся к родам *Priestea* и *Enterobacter*, также являющиеся деструкторами ПАУ, из которых был получен бактериальный консорциум.

3.2.2 Иммобилизация консорциума бактерий на поверхности изучаемых сорбентов

Для получения бактериального консорциума производилось накопление суточной культуры штаммов на твердой питательной среде (мясо-пептонный агар, МПА) с последующим смывом культур стерильной водой. Полученную суспензию доводили до мутности в 1 единицу по МакФарланду, используя для сравнения фотометр DEN-600, и 1 мл данной суспензии вносили в стерильные емкости с питательной средой на основе минеральных солей (MSM). После чего в данную среду добавляли навеску сорбента (бентонита, бентонита с преадсорбированными питательными веществами, соответствующей органоглины) в количестве 2% (по массе) от объема среды. Инкубация производилась при температуре 30°C, встряхивании с частотой 150 об/мин в течение 3 суток. По истечении срока инкубации содержимое емкостей фильтровалось от остатков культуральной жидкости. Полученные комплексы сорбентов и бактерий высушивали при комнатной температуре и размельчали.

3.2.3 Колониеобразующий тест

Для десорбции клеток с поверхности полученных комплексных сорбентов их навеску тщательно растирали резиновым пестиком в фарфоровой ступке с добавлением стерильной воды в течение 10 минут. После

растирания суспензия тщательно встряхивалась в пробирке на вортексе для перехода максимального количества бактериальных клеток в раствор.

Далее после серии разведений производился посев стандартным методом на плотную агаризованную среду (МПА) для подсчета колоний и дальнейшего определения титра микроорганизмов.

3.3 Иммобилизация бактерий на бентоните и органоглинах

Для исследования эффективности иммобилизации консорциума бактерий осуществлялся контроль титра микроорганизмов в образцах всех использованных сорбентов. Несмотря на одинаковые условия инкубации, численность бактерий отличалась в образцах органоглин, синтезированных с разными ПАВ (рис. 7).

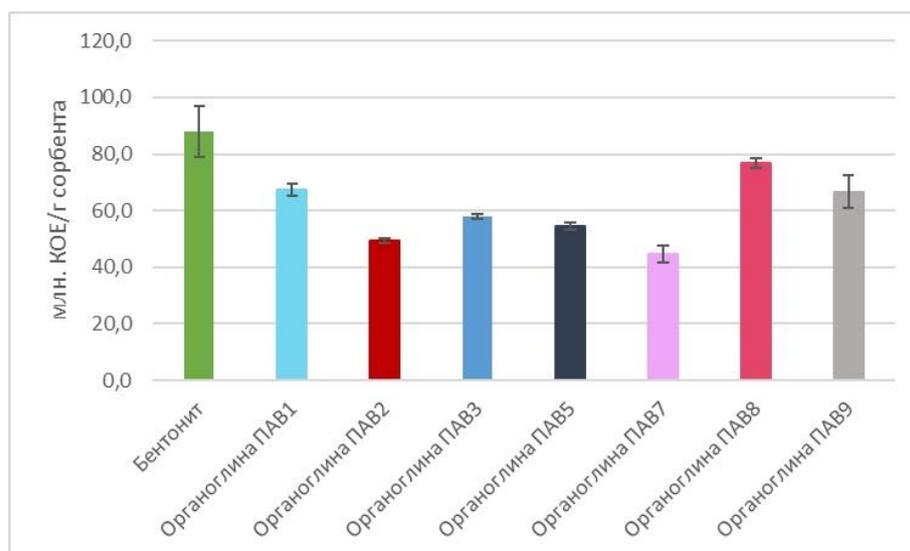


Рисунок 7 – Численность КОЕ консорциума микроорганизмов на образцах бентонита и органоглин

Наиболее высокое число КОЕ/г сорбента отмечается в чистом бентоните. Наиболее низкое количество КОЕ бактериальных клеток по сравнению с чистым бентонитом отмечено в образцах органоглины с лаураминоксидом (ПАВ2) и органоглины с алкилполиглюкозидом (ПАВ7). В некоторых работах показаны антибактериальные свойства органоглин на основе ПАВ [68]. Соответственно такие ПАВ могут негативно влиять на

эффективность заселения микроорганизмами поверхности органоглин. В других работах не отмечается токсического влияния сурфактантов, особенно на микроорганизмы-деструкторы углеводов [69,70], что предполагает возможность активной колонизации микроорганизмами поверхности органоглин. Очевидно, что при рассмотрении этого вопроса необходимо принимать во внимание свойства ПАВ использованных для синтеза органоглин и свойства штаммов инокулируемых микроорганизмов.

3.4 Влияние преадсорбированных питательных органических веществ на эффективность инокуляции бактерий на поверхность глинистых минералов

Данные количественного учета микроорганизмов в образцах чистого бентонита и бентонита с преадсорбированными веществами показали, что численность КОЕ в образце «бентонит + глюкоза» была выше по сравнению с чистым бентонитом в 1,3 раза. Преадсорбция казаминовых кислот привела к увеличению КОЕ микроорганизмов 1,4 раза по сравнению с исходным бентонитом (табл. 9).

Таблица 9 – Число КОЕ консорциума бактерий в образцах комплексов с преадсорбированными питательными веществами

Сорбент	Численность, млн КОЕ/г сорбента
Бентонит	88,0±9,0921
Бентонит + глюкоза	114,6±6,9442
Бентонит+казаминовые к-ты	124,6±11,0855

Важность казаминовых кислот, представляющих собой смесь аминокислот и коротких пептидов, в метаболических процессах бактерий показана в работах ряда исследователей. Так в работе [71] была изучена роль различных субстратов в процессе образования биопленок у *S. maltophilia*. Было отмечено, что аминокислоты являются важным компонентом питательной среды для формирования биофильмов. При дефиците аминокислот их недостаток компенсировало добавление глюкозы.

Казаминовые кислоты, как важный источник углерода и азота, необходимы для синтеза фосфолицератмутазы - фермента, играющего важную роль в процессе образования биопленки, так как он является ключевым для гликолиза/глюконеогенеза. Некоторые исследователи считают, что казаминовые кислоты играют ключевую роль в синтезе экзополисахаридов (ЭПС) и функционировании жгутиков, что в значительной мере влияет на адгезию бактерий к поверхности [72].

Таким образом, наши исследования показывают, что преадсорбция органических питательных веществ, благоприятно сказывается на иммобилизации консорциума бактерий на глинистых минералах.

4 АПРОБАЦИЯ РАЗРАБОТАННЫХ ОРГАНО-МИНЕРАЛЬНЫХ И БИО-МИНЕРАЛЬНЫХ СОРБЕНТОВ ДЛЯ РЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ И ОЧИСТКИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ВОД ПРОМЫШЛЕННЫХ ПРЕДПРИЯТИЙ ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

4.1 Тяжелые металлы в природных объектах Тульской области

4.1.1 Тяжелые металлы в почвах Тульской области

Тульская область является одной из самых индустриально развитых в центральном регионе России. Региональные экологические проблемы области обусловлены, прежде всего, тем, что на сравнительно небольшой территории сконцентрировано большое число предприятий химической, металлургической промышленности, производства и распределения электроэнергии, являющихся мощными источниками загрязнения окружающей среды. По данным выборочного федерального статистического наблюдения в 2019 году только выбросы в атмосферу вредных веществ организациями Тульской области составили 106,63 тыс. тонн, что на 2,58 тыс. тонн выше по сравнению с 2018 годом. По данным, приводимым другими государственными источниками, ежегодный выброс вредных веществ в атмосферу составляет порядка 165 тыс. тонн [73].

Тем не менее, сопоставление содержания тяжелых металлов в атмосферных осадках и речном стоке, выполненное для Верхнеокского бассейна [74], показало, что в целом поступление Cu, Zn, Ni, Cd на изученной территории с атмосферными осадками почти в 2 раза меньше их выноса с речным стоком, а баланс свинца близок к нулю. Поступают ТМ в бассейн преимущественно в растворимой форме, а выносятся главным образом со взвешенным веществом. При этом региональные модули атмосферных выпадений Mn и Cu близки к глобальным, а модули выпадений Zn, Ni, Pb, Cd – в 1.5–3.0 раза больше глобальных. Проведенные ранее исследования показали, что в изученном районе ежегодно на 1 м² поверхности почвы может

поступать с жидкими атмосферными осадками и пылью 1776–18263 мг Fe, 85–211 мг Mn, 115–222 мг Zn, 9.4–36.4 мг Ni, 11.4–92.5 мг Pb, 2.1–19.2 мг Cd [75].

Сравнение основных составляющих приходной части геохимического баланса ТМ на уровне типичного для изученной территории агропроизводственного ландшафта (поступление элементов с жидкими и твердыми осадками, удобрениями, без учета поступления с пожнивными остатками и опадом, посевным материалом, известковой мукой) с потерями микроэлементов за счет различных миграционных процессов также показало, что в целом сложившийся баланс – отрицательный, за исключением цинка. За счет специфических агрогенных источников ТМ в пахотные почвы возможно поступление на 1 м²: 256–542 мг Fe, 28–53 мг Mn, 23–47.5 мг Zn, 2.3–4.6 мг Ni, 0.6–2.0 мг Pb и 0.05–0.23 мг Cd. При этом поступление ТМ в агроландшафт составляло от 13% для Mn до 50–70% для остальных элементов от их суммарного выноса из агроценоза. В то же время с учетом вышеперечисленных недостающих статей баланс практически всех элементов, кроме Fe, Cu, Pb и частично Ni становился положительным. Для агроэкосистем, где выращивают зерновые, и технологическая эрозия отсутствует, баланс Cr, Ni и Zn положительный, Mn, Cu и Co – отрицательный, Pb – приблизительно нулевой, либо в отдельные годы положительный. Восполнение потерь тяжелых металлов в почве за счет внесения минеральных удобрений не превышает 15–35% от суммарных потерь агроэкосистемой [75,76].

Тем не менее, выявлено повышенное содержание тяжелых металлов в почвах районных центров – г. Суворова, г. Новомосковска, г. Плавска и областного центра – г. Тулы и непосредственно прилегающих к ним территориям, где расположено большое количество промышленных предприятий и интенсивно развит автомобильный транспорт [77]. При этом загрязнение Cu, Ni, Pb, Zn может составлять десятки ОДК.

4.1.2 Тяжелые металлы в водных объектах Тульской области

Загрязненность поверхностных вод Тульской области носит масштабный характер. В качестве основных загрязнителей следует отметить азот нитритный и аммонийный, сульфаты, фосфаты, хлориды, фенол и нефтепродукты, соли тяжелых металлов. Загрязнению водоемов способствует также устаревшая система очистных сооружений Тулы и Тульской области, которая требует серьезной модернизации [78]. Основными причинами загрязнения поверхностных вод Тульской области являются сбросы недостаточно очищенных сточных вод предприятий. Существенными загрязнителями поверхностных вод являются такие предприятия, как «Тулагорводоканал», Новомосковская акционерная компания «Азот» и «Щёкиноазот»

В водных объектах Тульской области, удаленных от автомагистралей на расстояние не менее 1 км, такие опасные элементы как кадмий, свинец и ртуть находились в невысоких концентрациях. Относительно высоким содержанием отличался кобальт. Его концентрация в некоторых водоемах приближалась к ПДК [79] (табл. 10).

Таблица 10 – Содержание химических элементов в ряде водоемов на территории Тульской области (мкг/л)

Место отбора проб	Hg	Pb	Cd	Zn	Cu	Se	Co
р. Упа (нижнее течение)	0,082 ±0,024*	0,26 ±0,05	0,07 ±0,029	34,3 ±2,2	15,1 ±1,7	6,09 ±1,1	1,1 ±0,05
р. Упа (верхнее течение)	0,045 ±0,045	0,17 ±0,02	0,05 ±0,003	41,0 ±11,8	29,9 ±9,0	6,1 ±0,97	0,65 ±0,01
р. Осетр (верхнее течение)	0,036 ±0,0027	0,31 ±0,04	0,049 ±0,01	47,5 ±0,009	5,7 ±0,8	3,1 ±0,87	0,58 ±0,12
Болото в пойме р. Осетр	0,024 ±0,005	0,35 ±0,02	0,03 ±0,005	27,1 ±2,9	12,5 ±0,11	3,3 ±1,0	0,86 ±0,13
р. Пловица	0,014 ±0,0035	0,22 ±0,02	0,04 ±0,006	43,1 ±5,3	0,87 ±0,06	4,2 ±0,87	1,06 ±0,01
Озеро в пойме р. Упа	0,039 ±0,001	0,79 ±0,06	0,21 ±0,003	77,8 ±1,6	5,75 ±0,62	4,9 ±0,63	0,82 ±0,01
Содержание в пресных водах	0,1	0,3-50,0	0,1	0,1-240,0	10,0-2800	0,6-2,0	10,0-180,0
ПДК в питьевой воде	0,5	10,0	1,0	1000,0	1000,0	10,0	100,0

* - ошибка средней

4.2 Объекты и методы исследований

4.2.1 Изучение подвижных форм металлов в дерново-подзолистой почве и выщелоченном черноземе

Объектами исследований являлись подвижные формы металлов в зональных типах почв (дерново-подзолистые, выщелоченный чернозем), характерных для Тульской области. Изучалось их содержание в почвах при внесении растворимых форм свинца и цинка в присутствии 1 и 3% (от массы почвы) органоглины с алкилполиглюкозидом и в исходных почвах.

Смешанные образцы почв отбирались из верхнего горизонта незагрязненных пахотных почв методом конверта (из 5 точек один образец). Отобранные образцы высушивались до воздушно-сухого состояния, освобождались от корней и просеивались через сито с диаметром пор 2 мм. Места отбора образцов почв указаны в табл. 11. Общие физические и химические свойства образцов почв определялись с использованием стандартных методов, принятых в отечественном почвоведении: гумус – по Тюрину, рН солевой – потенциметрически, гидролитическая кислотность – по Каппену, подвижные фосфор и калий – по Кирсанову, поглощенные основания – по Блэку. Гранулометрический состав исследовали методом пипетки (вариант Качинского) с подготовкой почвы к анализу пирофосфатным методом по Долгову и Личмановой [80]. Свойства исходных почв приведены в табл. 12 и 13.

Таблица 11 – Характеристика мест отбора зональных типов почв Тульской области

№	Тип почв	Характер использования	Место отбора
1.	Дерново-подзолистая	Пашня	4 км к северу от с. Никольское, Щекинский район
2.	Чернозем выщелоченный	пашня, посев пшеницы	между с. Карамышево и с. Б. Тросна, Щекинский район

Таблица 12 - Гранулометрический состав образцов типов почв Тульской области, использованных для эксперимента

Почва	Процентное содержание фракций (среднее арифметическое по трем измерениям)						
	1- 0.25	0.25- 0.05	0.05- 0.01	0.01- 0.005	0.005- 0.001	<0.00 1	<0.0 1
Дерново- подзолистая, пашня, с. Никольское	6,76	15,20	49,22	8,39	10,23	10,19	28,81
Чернозем выщелоченный, с. Н. Тросна	0,46	2,72	44,76	12,67	12,22	27,17	52,06

По гранулометрическому составу представленные почвы являются: дерново-подзолистая (пахотная) – легкосуглинистая, чернозем выщелоченный – тяжелосуглинистым.

Таблица 13 – Химические свойства образцов типов почв Тульской области, использованных для эксперимента

Почва	pH	N, %	C, %	H, %	S, %	C/N	Гумус, %
Дерново- подзолистая, пашня, с. Никольское	6,4	0,15	1,48	0,425	0,027	9,70	2,55
Чернозем выщелоченный, Н. Тросна	6,2	0,26	3,53	0,896	0,038	13,45	6,09

В сосуды с 300 г соответствующей исходной почвы и почвы с 1 и 3% органоглины с алкилполиглюкозидом вносили раствор нитрата свинца в 4 высоких концентрациях концентрациях: 3,3 ммоль/кг, 9,9 ммоль/кг, 27 ммоль/кг и 45 ммоль/кг почвы. По окончании эксперимента определяли содержание подвижных форм свинца в почве и почве с органоглиной с использованием в качестве экстрагента ацетатно-аммонийного буферного раствора с pH 4,8 [81]. Концентрация металла в вытяжках определялась методом атомно-абсорбционной спектроскопии с пламенной атомизацией

проб на спектрометре Analytik Jena ContrAA® 800 F (Analytik Jena AG, Йена, Германия)

4.2.2 Изучение содержания непрочно связанных соединений свинца в черноземе обыкновенном под воздействием органоглин методом параллельных экстракций

Исследования выполнялись в условиях модельного вегетационного опыта с использованием чернозема обыкновенного мощного карбонатного среднегумусного тяжелосуглинистого на лессовидных суглинках (слой 0-20 см), отобранного на целинном участке Ростовской области. Состав обменных оснований вместе со значительным содержанием органического вещества, наличием высокодисперсных мицеллярных форм карбонатов и лессовидным характером почвообразующих пород обусловили благоприятные физические свойства чернозема обыкновенного: водо- и воздухопроницаемость, неплотное сложение и большую влагоемкость. Физико-химические свойства почвы были определены стандартными методами исследований [80]. Исследуемый образец почвы обладает следующими физико-химическими свойствами: рН – 7.3; 48.1% физической глины (частиц с диаметром < 0,01 мм), 28.6% ила (частиц с диаметром < 0,001 мм), содержание органического углерода 3.7%; карбонатов – 0.1%; ЕКО почвы - 36 сМ⁽⁺⁾·кг⁻¹.

Отобранный чернозем высушивали на воздухе, очищали от растительных остатков, измельчали и просеивали через сито с диаметром отверстий 3 мм. Навески почвы по 300 г помещали в пластиковые сосуды и вносили Рb в соответствии с концентрациями: невысокий уровень загрязнения – 3 ОДК (390 мг/кг) и высокий уровень загрязнения – 6 ОДК (780 мг/кг) [82] Данные концентрации соответствовали встречающемуся уровню загрязнения почв при различных техногенных нагрузках. Рb вносился на поверхность почвы в водном растворе в форме нитрата. Инкубация почвы с поллютантами проводилась в течение двух месяца. Затем были внесены сорбенты согласно схеме опыта (табл. 14).

В качестве сорбентов использовали бентонит и ранее полученные и исследованные в проекте органоглины на его основе:

- органоглина ПАВ-1 (модифицированная кокоиминодипропионатом натрия);
- органоглина ПАВ-2 (модифицированная лаураминоксидом);
- органоглина ПАВ-3 (модифицированная диэтаноламидом кокосового масла);
- органоглина ПАВ-5 (модифицированная кокоамфодиацетатом натрия);
- органоглина ПАВ-7 (модифицированная алкилполиглюкозидом);
- органоглина ПАВ-8 (модифицированная додецилсульфатом натрия);
- органоглина ПАВ-9 (модифицированная сунаталом).

Инкубация почвы и сорбентов составила 1 месяц. Дозы сорбентов подобраны в соответствии с рекомендуемыми литературными данными по внесению бентонита и глинистых сорбентов [83,84].

Таблица 14 – Схема модельного вегетационного опыта

№	Вариант
1	Контроль (Чернозем обыкновенный)
2	Контроль+1%бентонит
3	Контроль+1%органоглина ПАВ-1
4	Контроль+1%органоглина ПАВ-2
5	Контроль+1%органоглина ПАВ-3
6	Контроль+1%органоглина ПАВ-5
7	Контроль+1%органоглина ПАВ-7
8	Контроль+1%органоглина ПАВ-8
9	Контроль+1%органоглина ПАВ-9
10	Рв ЗОДК

№	Вариант
11	Рв 3ОДК+1%бентонит
12	Рв 3ОДК +1%органоглина ПАВ-1
13	Рв 3ОДК +1%органоглина ПАВ-2
14	Рв 3ОДК +1%органоглина ПАВ-3
15	Рв 3ОДК +1%органоглина ПАВ-5
16	Рв 3ОДК +1%органоглина ПАВ-7
17	Рв 3ОДК +1%органоглина ПАВ-8
18	Рв 3ОДК +1%органоглина ПАВ-9
19	Рв 3ОДК+2%бентонит
20	Рв 3ОДК +2%органоглина ПАВ-1
21	Рв 3ОДК +2%органоглина ПАВ-2
22	Рв 3ОДК +2%органоглина ПАВ-3
23	Рв 3ОДК +2%органоглина ПАВ-5
24	Рв 3ОДК +2%органоглина ПАВ-7
25	Рв 3ОДК +2%органоглина ПАВ-8
26	Рв 3ОДК +2%органоглина ПАВ-9
27	Рв 6ОДК
28	Рв 6ОДК+1%бентонит
29	Рв 6ОДК +1%органоглина ПАВ-1
30	Рв 6ОДК +1%органоглина ПАВ-2
31	Рв 6ОДК +1%органоглина ПАВ-3
32	Рв 6ОДК +1%органоглина ПАВ-5
33	Рв 6ОДК +1%органоглина ПАВ-7
34	Рв 6ОДК +1%органоглина ПАВ-8
35	Рв 6ОДК +1%органоглина ПАВ-9
36	Рв 6ОДК+2%бентонит
37	Рв 6ОДК +2%органоглина ПАВ-1
38	Рв 6ОДК +2%органоглина ПАВ-2
39	Рв 6ОДК +2%органоглина ПАВ-3
40	Рв 6ОДК +2%органоглина ПАВ-5
41	Рв 6ОДК +2%органоглина ПАВ-7

№	Вариант
42	Pb 6ОДК +2%органоглина ПАВ-8
43	Pb 6ОДК +2%органоглина ПАВ-9

Для определения подвижных соединений Pb в почве были использованы параллельные экстракции, позволяющие охарактеризовать всю совокупность непрочно связанных соединений ТМ в почве [85]:

1. ацетатно-аммонийный буфер (ААБ) – 1 н $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, рН 4,8 (при соотношении почва:раствор 1:5, время экстракции 18 часов) для извлечения обменных и растворимых в слабых кислотах соединений ТМ).
2. 1% раствор ЭДТА в ААБ, рН 4,8 (при соотношении почва:раствор 1:5, время экстракции 18 часов) позволяет дополнительно с обменными и растворимыми в слабых кислотах формами извлекать элементы из почвенных, в основном органических, комплексов. McLaren и Crawford [86] полагают, что при этом в раствор переходят ТМ, непрочно удерживаемые органическим веществом. По разнице между содержанием металлов в вытяжках 1% ЭДТА в ААБ и ААБ можно рассчитать количество комплексных соединений.
3. 1н HCl (при соотношении почва:раствор 1:10, время экстракции 18 часов) для извлечения ТМ, входящих в состав аморфных соединений полуторных оксидов и карбонатов (кислоторастворимые формы соединений). По разнице между содержанием металлов в вытяжках HCl и ААБ можно определить количество специфически сорбированных соединений металлов с Fe-Mn гидроксидами и карбонатами [85].

Непрочно связанные соединения удерживается на поверхности почвенных частиц органическими и минеральными компонентами почвы в обменном и специфически сорбированном состоянии. Специфически сорбированные металлы можно рассматривать как переходные между прочно и непрочно связанными их формами. Непрочно связанные соединения ТМ

наиболее доступны для растений. Существует тесная корреляция между содержанием подвижных форм металлов в почве и их содержанием в растениях [87]. Определение непрочно связанных соединений ТМ наиболее важно с экологической точки зрения, поскольку они поглощаются растениями и мигрируют в другие сопредельные среды.

Валовое содержание Pb в образцах почв модельного опыта определено методом рентгенофлуоресцентного анализа (РФА) на спектрометре «Спектроскан МАКС-GV» (Спектрон, Россия).

Концентрации Pb в экстрактах определялась методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии (ААС) на атомно-абсорбционном спектрометре «Квант-2» (Кортек, Москва, Россия).

Все анализы выполнены в трехкратной аналитической повторности. Экспериментальные данные были статистически обработаны с использованием статистических функций программного обеспечения STATISTICA 10.0.

4.2.3 Изучение содержания свинца в сточных водах муниципальных очистных сооружений г. Тулы

Очистные сооружения канализации г. Тулы были запроектированы на расчетный срок (1975 г.) мощностью 250 тыс. м³/сутки с возможностью расширения на перспективу (1985 г.) до 450 тыс. м³/сутки. Строительство ОСК началось в 1968 году, I очередь была введена в эксплуатацию в 1976 году, II очередь – в 1977 г. В 2012 году совместно с подрядной организацией была проведена научно-исследовательская работа по созданию перспективной схемы развития водоснабжения и водоотведения г. Тулы до 2025 года. На сегодняшний день очистные сооружения канализации г. Тулы реализуют мощность в 180 тыс. м³/сутки. В их состав входят: приёмная камера с решетками, песколовки, первичные и вторичные отстойники, метантенки, аэротенки, станция механического обезвоживания осадка, иловые карты. Очистные сооружения обслуживает АО «Тулагорводоканал». Нормативы

состава сточных вод утверждены Постановлением администрации г. Тулы №1995 от 26.06.2020 г.

В летнее время были отобраны образцы сточных вод из вторичного отстойника для проведения эксперимента по поглощению тяжелых металлов из сточных вод синтезированной органоглиной на основе бентонита и неионогенного ПАВ - алкилполиглюкозида. К 100 мл сточных вод был добавлен 1 г органоглины, после чего смесь взбалтывалась на шейкере (180 оборотов/минуту) при комнатной температуре в течение 3 часов. По окончании жидкая фаза была отделена от твердой центрифугированием при 10000 оборотов/минуту в течение 10 минут. Концентрацию тяжелых металлов в полученном супернатанте определяли методом атомно-абсорбционной спектрометрии с пламенной атомизацией проб на спектрометре Analytik Jena ContrAA® 800 F (Analytik Jena AG, Йена, Германия).

4.3 Снижение подвижных форм тяжелых металлов в почвах Тульской области при внесении бентонита и органоглины с алкилполиглюкозидом

Результаты эксперимента по изменению содержания подвижных форм свинца в свежезагрязненных высокими дозами свинца почвах при внесении в них бентонита и органоглины и последующей инкубации в течение 35 дней представлены в табл. 15.

Полученные нами результаты показывают, что внесение бентонита уменьшает количество подвижных форм свинца при его высоких дозах как в дерново-подзолистой почве, так и в выщелоченном черноземе, что свидетельствует о его активном участии в иммобилизации элемента и достаточно прочной фиксации металла в минеральных структурах.

Таблица 15 – Подвижные формы Рb в почвах с изучаемыми сорбентами

Доза свинца, ммоль/кг	Концентрация, внесенных металлов, мг/кг	Концентрация подвижных форм в почве без добавок, мг/кг	Концентрация подвижных форм Рb в почве бентонитом 1%, мг/кг	Концентрация подвижных форм Рb в почве с органомглиной 1%, мг/кг	Концентрация подвижных форм Рb в почве с органомглиной 3%, мг/кг
Дерново-подзолистая почва					
3,3	683,76	84,5±6,0	67,8±3,0	54,3±2,4	53,6±1,7
9,9	2051,28	301,3±12,1	236,5±6,3	207,2±11,2	194,9±14,7
27	5594,4	2310,4±15,0	2250,3±23,1	2109,4±31,7	2180,3±28,9
45	9324	3608,7±22,4	3420,3±32,3	3549,1±42,1	3498,3±12,9
0	0	0,7±0,15	0,5±0,08	0,4±0,1	0,4±0,03
Чернозем выщелоченный					
3,3	683,76	76,1±9,3	69,2±3,4	67,2±4,2	65,4±2,1
9,9	2051,28	252,3±17,1	251,4±12,1	241,3±8,5	243,4±12,4
27	5594,4	1997,6±18,9	1950,4±38,6	1940,6±12,3	1960,7±21,3
45	9324	3576,5±34,7	3375,3±73,9	3402±41,5	3290,8±154,3
Контроль	0	5,4±0,3	4,3±0,7	4,2±0,3	4,6±0,5

Внесение органомглины в количестве 1% также уменьшает количество подвижных форм свинца при его внесении в почву в высоких дозах, но не так существенно, как в сорбционных экспериментах в растворе, поскольку в почве имеется множество других компонентов, принимающих участие в связывании элемента. При максимальной дозе металла эффект органомглины по сравнению с бентонитом даже несколько снижается. Возможно, речь идет о неравномерном распределении органомглины в почвенном объеме и насыщении сорбционных центров. При этих дозах металла увеличение содержания органомглины до 3% дает, в целом, небольшую тенденцию снижения подвижных форм по сравнению с 1%, но оно не является статистически значимым.

В природных образцах чернозема выщелоченного содержание подвижных форм свинца больше по сравнению с дерново-подзолистой

почвой, что является следствием не только большего валового содержания элемента, но и установления мобилизационно-иммобилизационного равновесия металла на уровне более высоких величин. Тенденции снижения содержания подвижных форм свинца наблюдаются и при внесении чистого бентонита по сравнению с исходной почвой, и при внесении органоглины. Однако данные изменения во всех случаях не являются статистически значимыми. При внесении органоглины в количестве 3% не происходит аддитивного уменьшения подвижных форм, а в некоторых случаях наблюдается даже увеличение средних значений, что опять же говорит о гетерогенности почв.

Таким образом, внесение органоглин является более эффективным для снижения подвижных форм свинца при его высоких дозах в малобуферных дерново-подзолистых почвах. Наличие компонентов и свойств, обеспечивающих высокую природную поглотительную способность выщелоченных черноземов по отношению к катионам, делает внесение органоглин менее эффективным. На процесс трансформации соединений свинца влияет доза его внесения, время трансформации и тип почвы.

4.4 Изменение содержания непрочно связанных соединений свинца под воздействием органоглин методом параллельных экстракций

В черноземе обыкновенном модельного опыта содержание Pb составило 30 мг/кг. Концентрации обменных соединений Pb в черноземе обыкновенном не превышает 1% от общего содержания (табл. 16, рис. 8). В почве опыта, неподверженной загрязнению (контроль), при внесении органоглин наблюдается снижение подвижности Pb (до уровня 0,3 - 0,8% от общего содержания). Доля комплексных и специфически сорбированных соединений Pb при внесении сорбентов близка к контролю и не превышает 3-7%. В незагрязненных вариантах опыта непрочно связанные соединения составляет

8-15% от валового количества металла и представлена в основном специфически сорбированными соединениями (5-7%) (табл. 16, рис. 8).

Таблица 16 – Общее содержание и количество обменных, комплексных и специфически сорбированных форм Рb в почве модельного опыта, мг/кг

Вариант опыта	Непрочно связанные соединения металла			Валовое содержание, мг/кг
	обменные	комплексные	специфически сорбированные	
Контроль (Чернозем обыкновенный)	0,39±	1,90±	2,01±	29,63±
	0,04*	0,23	0,22	2,72
Контроль+1%бентонит	0,13±	1,10±	1,72±	27,84±
	0,02	0,12	0,16	3,31
Контроль+1%органоглина ПАВ-1	0,09±	0,92±	1,38±	26,91±
	0,01	0,08	0,18	3,24
Контроль+1%органоглина ПАВ-2	0,08±	0,96±	1,40±	29,04±
	0,01	0,12	0,16	2,62
Контроль+1%органоглина ПАВ-3	0,24±	1,81±	1,88±	31,20±
	0,02	0,21	0,17	2,82
Контроль+1%органоглина ПАВ-5	0,14±	0,81±	1,35±	27,67±
	0,02	0,10	0,13	3,55
Контроль+1%органоглина ПАВ-7	0,12±	1,06±	1,52±	30,48±
	0,01	0,11	0,18	3,53
Контроль+1%органоглина ПАВ-8	0,15±	1,39±	1,88±	31,20±
	0,02	0,13	0,19	2,97
Контроль+1%органоглина ПАВ-9	0,22±	1,20±	2,07±	28,93±
	0,02	0,14	0,21	2,76
Рb ЗОДК+почва	34,96±	38,64±	41,60±	475,97±
	3,21	4,65	4,10	23,89
Рb ЗОДК+1%бентонит	16,40±	32,76±	33,38±	480,73±
	1,95	3,62	3,02	24,04
Рb ЗОДК +1%органоглина ПАВ-1	5,83±	29,06±	30,09±	487,65±
	0,70	2,63	3,66	27,57
Рb ЗОДК +1%органоглина ПАВ-2	5,30±	31,59±	32,62±	491,19±
	0,59	4,06	3,02	33,72
Рb ЗОДК +1%органоглина ПАВ-3	15,23±	34,41±	29,46±	479,45±
	1,38	3,99	3,25	33,20
Рb ЗОДК +1%органоглина ПАВ-5	5,60±	32,08±	32,01±	471,49±
	0,72	3,06	3,79	32,36
Рb ЗОДК +1%органоглина ПАВ-7	5,60±	32,46±	32,70±	486,61±
	0,65	2,98	3,27	29,42
Рb ЗОДК +1%органоглина ПАВ-8	15,67±	35,17±	28,80±	478,80±
	1,49	4,19	2,88	29,51

Продолжение табл. 16

Вариант опыта	Непрочно связанные соединения металла			Валовое содержание, мг/кг
	обменные	комплекс ные	специфичес ки сорбирован ные	
Рь 3ОДК +1%органоглина ПАВ-9	19,75± 1,89	34,68± 4,17	34,53± 3,41	483,18± 25,38
Рь 3ОДК+2%бентонит	5,86± 0,70	24,57± 2,71	24,2±5 2,89	490,40± 29,65
Рь 3ОДК +2%органоглина ПАВ-1	0,95± 0,11	19,07± 1,72	29,72± 3,54	481,54± 32,91
Рь 3ОДК +2%органоглина ПАВ-2	1,95± 0,18	21,41± 2,55	28,17± 3,39	483,13± 24,99
Рь 3ОДК +2%органоглина ПАВ-3	5,40± 0,64	26,07± 3,14	28,78± 2,89	478,50± 33,03
Рь 3ОДК +2%органоглина ПАВ-5	1,39± 0,17	14,16± 1,56	23,53± 2,13	480,91± 24,17
Рь 3ОДК +2%органоглина ПАВ-7	2,14± 0,24	17,28± 1,58	23,70± 3,05	474,58± 23,90
Рь 3ОДК +2%органоглина ПАВ-8	5,52± 0,50	21,63± 2,78	29,25± 2,80	486,30± 19,66
Рь 3ОДК +2%органоглина ПАВ-9	5,17± 0,66	19,90± 2,31	34,31± 3,44	480,19± 28,08
Рь 6ОДК+почва	78,15± 9,05	87,92± 8,38	99,17± 8,97	811,17± 45,30
Рь 6ОДК+1%бентонит	48,94± 4,66	53,78± 4,93	80,06± 7,88	808,03± 48,63
Рь 6ОДК +1%органоглина ПАВ-1	21,95± 2,10	28,97± 2,87	62,54± 5,37	806,43± 40,32
Рь 6ОДК +1%органоглина ПАВ-2	34,11± 4,10	32,41± 2,93	57,24± 5,16	810,90± 50,06
Рь 6ОДК +1%органоглина ПАВ-3	39,84± 3,98	45,15± 3,63	78,65± 7,87	804,10± 47,46
Рь 6ОДК +1%органоглина ПАВ-5	31,59± 3,16	28,88± 2,61	62,16± 5,70	798,80± 48,14
Рь 6ОДК +1%органоглина ПАВ-7	32,51± 3,86	37,87± 3,04	62,11± 6,15	806,32± 40,60
Рь 6ОДК +1%органоглина ПАВ-8	39,83± 4,75	44,59± 4,03	69,64± 6,86	807,21± 48,77
Рь 6ОДК +1%органоглина ПАВ-9	48,42± 4,78	45,40± 4,47	61,15± 5,86	809,30± 39,23
Рь 6ОДК+2%бентонит	36,34± 3,29	44,89± 3,85	60,99± 5,59	805,97± 45,01
Рь 6ОДК +2%органоглина ПАВ-1	17,93± 2,18	31,23± 2,82	53,25± 5,27	808,82± 52,83
Рь 6ОДК +2%органоглина ПАВ-2	15,81± 1,46	22,89± 2,29	55,83± 5,04	811,63± 45,02

Продолжение табл. 16

Вариант опыта	Непрочно связанные соединения металла			Валовое содержание, мг/кг
	обменные	комплексные	специфически сорбированные	
Рв 6ОДК +2%органоглина ПАВ-3	32,36± 3,57	45,11± 4,14	61,29± 4,92	809,95± 56,85
Рв 6ОДК +2%органоглина ПАВ-5	18,94± 2,24	29,83± 2,95	62,77± 5,68	806,93± 45,06
Рв 6ОДК +2%органоглина ПАВ-7	21,34± 2,13	28,29± 2,79	53,83± 4,33	802,91± 52,87
Рв 6ОДК +2%органоглина ПАВ-8	32,01± 3,20	49,01± 4,70	63,19± 5,71	803,77± 52,50
Рв 6ОДК +2%органоглина ПАВ-9	31,55± 3,74	50,83± 4,58	61,55± 5,87	809,16± 44,88

* - ошибка средней

При внесении соединений Рв в почву происходит увеличение общего содержания металла, а также обменных, комплексных и специфически сорбированных форм (табл. 16). С ростом дозы загрязнения увеличивается содержание непрочно связанных соединений. При загрязнении почвы Рв дозой 3 ОДК содержание группы непрочно связанных соединений вырастает до 24%, при дозе 6 ОДК – до 33%.

Как и в незагрязненных вариантах опыта, так и при загрязнении непрочно связанные соединения металла представлены в основном их специфически сорбированными формами (табл. 16, рис. 8). В почве данные соединения металлов представлены соединениями с Fe-Mn оксидами и карбонатами. Как отмечалось исследователями [89], большую роль в фиксации тяжелых металлов играют гидроксиды. Ионы металлов, поглощенные гидроксидом, могут со временем переходить в окклюдированное состояние. Механизм окклюзии состоит в том, что в ходе осаждения гидроксидов Fe и Al происходит захват твердофазных оксидов микроэлементов так, что соединения окклюдированных элементов оказываются внутри другой твердой фазы. Активное взаимодействие металла с карбонатами обусловлено в черноземах наличием мицеллярной формы

карбонатов, обладающей высокой удельной поверхностью, большой растворимостью, что ведет к повышению активности карбонатов в растворе [90].

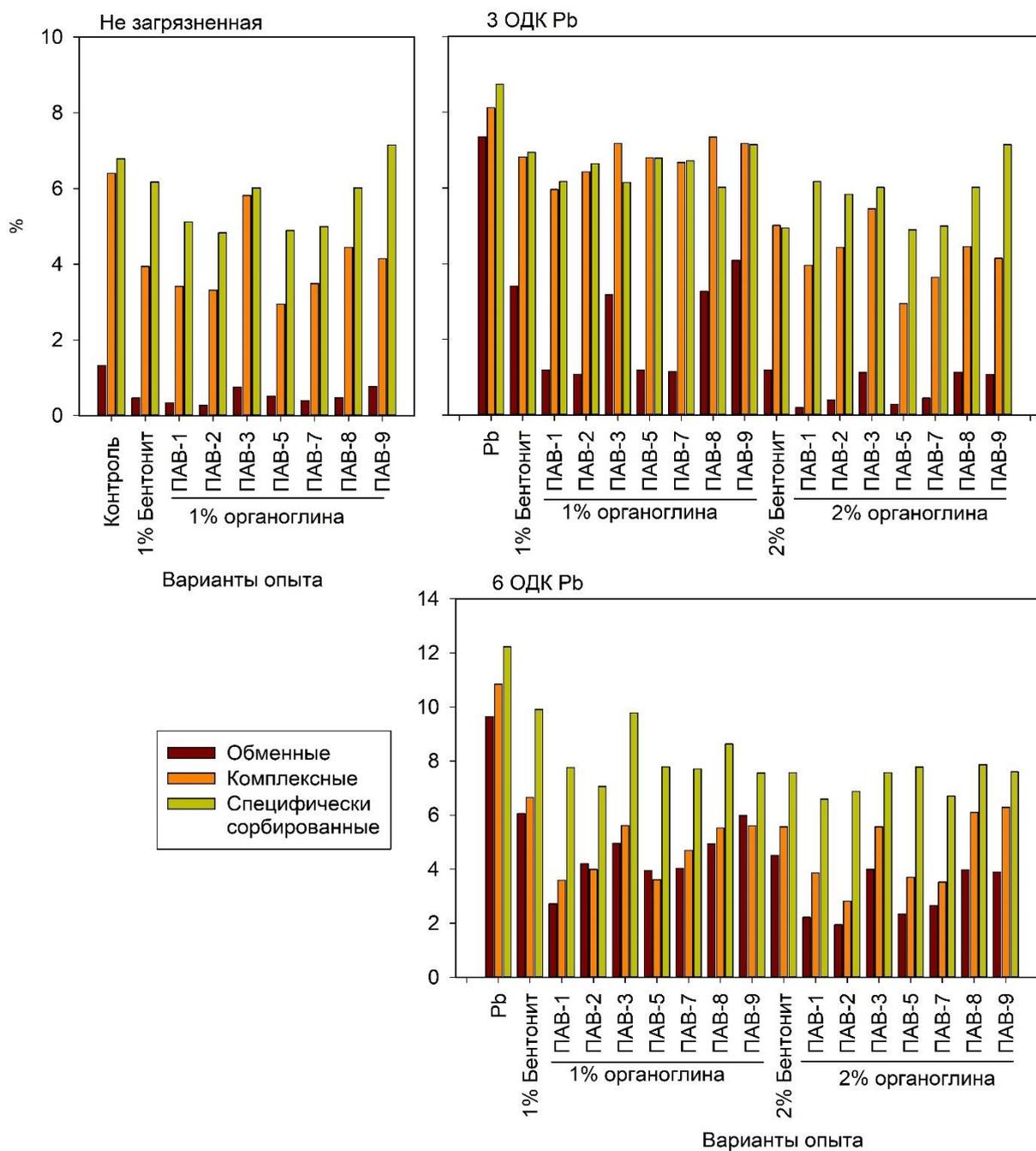


Рисунок 8 – Состав непрочно связанных (обменных, комплексных и специфически сорбированных) соединений Pb в почве модельного опыта, % от общего содержания

В незагрязненной почве установлено следующее распределение форм Рb в группе непрочно связанных соединений: специфически сорбированные > комплексные > обменные (табл. 16, рис. 8). При загрязнении увеличивается в большей степени относительное содержание наиболее мобильных форм - обменных соединений (на 6-9% до 7-10% при загрязнении), доли комплексных и специфически сорбированных соединений возрастают в меньшей степени (на 2-5%, до 8-12%), что отражает высокую подвижность и доступность для растений Рb (рис. 8). При этом внутри группы непрочно связанных соединений доли обменных, комплексных и специфически сорбированных соединений становятся примерно равными (табл. 16, рис. 8).

Отмечается довольно высокое содержание комплексных соединений Рb, которые в почве представлены главным образом комплексами с органическим веществом почвы. Активное взаимодействие Рb с органическим веществом почвы обусловлено природой самого элемента и его сродством к определенным типам реакционных центров [91]. Установлено, что Pb^{2+} образует с гуминовыми кислотами почв прочные внутрисферные октаэдрические комплексы хелатного типа [92]. Рb может стабилизироваться как внутрисферный бидентатный комплекс при взаимодействии с карбоксильными группами или комбинацией карбоксильных и аминогрупп, расположенных на поверхности органических соединений почвы [93].

При внесении бентонита и органоглин с различными ПАВ (амфотерными, неионногенными и анионногенными ПАВ) в загрязненные Рb почвы происходят заметные изменения в содержании и составе непрочно связанных форм металла. На вариантах опыта с невысоким уровнем загрязнения (3 ОДК Рb) с внесением бентонита и органоглин в дозе 1% отмечается снижение подвижности соединений металлов. Обменные формы Рb снижаются на 4-6%, комплексные формы - на 1-4%, специфически сорбированные - на 2-4%. Также следует отметить, что в вариантах с внесением 1% органоглин с ПАВ-1 (кокоиминодипропионат натрия), ПАВ-2

(лаураминоксид), ПАВ-5 (кокоамфодиацетатом натрия) и ПАВ-7 (алкилполиглюкозид) отмечается снижение содержания обменных соединений ниже 6 мг/кг, что ниже ПДК обменных соединений Рb в почве [82]. Это указывает на способность применяемых сорбентов прочно закреплять на своей поверхности металлы и уменьшать их мобильность в загрязненных почвах. При внесении 2% органоглин и бентонита отмечается снижение обменных соединений Рb во всех вариантах ниже ПДК (табл. 16). В этом случае доля всех непрочно связанных соединений снижается до 9-11% (рис. 8).

При высокой дозе загрязнения (6 ОДК) при внесении сорбентов также наблюдается снижение доли непрочно связанных соединений в почве с 33% до 12-22% (рис. 8). При внесении 1% бентонита и органоглин содержание наиболее подвижных обменных соединений Рb снижается в 1,7-3,5 раза, при внесении 2% сорбентов – в 2,1-4,3 раза (табл. 16). Наибольшее снижение подвижности металла наблюдается на органоглинах с ПАВ-1, ПАВ-2, ПАВ-5, ПАВ-7, меньший эффект заметен при использовании бентонита и органоглин с ПАВ-3 (диэтаноламид кокосового масла), ПАВ-8 (додецилсульфат натрия) и ПАВ-9 (сунатал), имеющих близкие значения (табл. 16). Данные результаты согласуются с полученными ранее данными по сорбционным возможностям полученных органоглин (отчеты 2023 и 2022 гг). Исследованиями показано, что сорбенты на основе глины способны со временем к дальнейшей сорбции и прочному закреплению поллютантов при высоком уровне загрязнения почв.

Применение сорбентов на загрязненной почве восстанавливает соотношение внутри группы непрочно связанных соединений, близкое к незагрязненной почве: специфически сорбированные > комплексные> обменные соединения. Наиболее эффективным было применение дозы 2% органоглин (табл. 16, рис. 8).

Таким образом, в вариантах с внесением 3 ОДК Рb, уже при дозе 1% сорбентов уровень содержания обменных форм ТМ не превышал ПДК для

почвы (на вариантах с ПАВ-1, ПАВ-2, ПАВ-5 и ПАВ-7), при дозе 2% сорбентов – на всех вариантах, что указывает на способность применяемых сорбентов прочно закреплять на своей поверхности металлы и уменьшать их мобильность в загрязненных почвах. Наибольшее снижение подвижности металлов наблюдалось при дозе в 3 ОДК металла при внесении 2% сорбентов. При высоком загрязнении (6 ОДК металла) при внесении сорбентов наблюдается снижение долей всех непрочно связанных соединений, особенно активно - наиболее подвижных обменных соединений. Наибольшее снижение отмечается при внесении 2% органоглин (до 4,3 раз). При невысоком загрязнении органоглины с кокоиминодипропионатом натрия, лаураминоксидом, кокоамфодиацетатом натрия и алкилполиглюкозидом показали свою эффективность в снижении подвижности Рb при дозе внесения 1%, что соответствует внесению 20 тонн сорбента на 1 гектар площади почвы. Для высокого загрязнения (6 ОДК и более) рекомендуется внесение более 40 тонн на гектар с более длительным временем инкубации.

4.5 Снижение концентрации тяжелых металлов в сточных водах очистных сооружений г. Тулы

Результаты эксперимента по поглощению тяжелых металлов органоглиной на основе алкилполиглюкозида из сточных вод городских очистных сооружений г. Тулы показаны в табл. 17.

Результаты нашего эксперимента показывают, что после использования органоглины с алкилполиглюкозидом, содержание тяжелых металлов в водах вторичного отстойника очистных сооружений достигает для всех металлов следовых значений, значительно меньше установленных гигиенических нормативов. В случае Ni, Рb и Zn концентрации в воде вторичного отстойника ниже уровня чувствительности прибора.

Таблица 17 – Эффективность удаления тяжелых металлов из сточных вод очистных сооружений г. Тулы органоглиной на основе алкилполиглюкозида

Металл	Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования [88]	Содержание в водах вторичного отстойника	Содержание после использования органоглины (1%) с алкилполиглюкозидом
		мг/л	
Cd	0,001	0,0053	0,0005
Cu	1,0	0,0056	0,0006
Ni	0,02	0,0089	<0,0001
Pb	0,01	<0,0001	<0,0001
Zn	1,0	0,0002	<0,0001

Таким образом, мы видим эффективность использования органоглин для очистки сточных вод, содержащих тяжелые металлы.

4.6 Практические рекомендации по использованию разработанных органо-минеральных и био-минеральных комплексов в практике охраны природы

1. Эффективными поглотителями (иммобилизаторами) свинца в объектах окружающей среды являются органоглины, синтезированные на основе бентонита и ряда амфотерных (кокоамфодиацетат динатрия, кокоиминодипропионат натрия) и неионогенных (лаураминоксид, кокамид диэтаноламин, алкилполиглюкозид) ПАВ.
2. Проведенная комплексная оценка токсического действия разработанных органоглин и их соединений со свинцом в количестве 1 и 3% показала, что минимальной токсичностью обладают органоглины на основе алкилполиглюкозида (НПАВ) и кокоамфодиацетата динатрия (АПАВ). Таким

образом данные органоглины в данных концентрациях могут быть использованы для безопасной ремедиации объектов окружающей среды.

3. На снижение токсичных форм свинца оказывает влияние доза загрязнения, время инкубации и тип почвы. Внесение органоглин является более эффективным для снижения подвижных форм свинца в малобуферных почвах (дерново-подзолистые и др.). Наличие компонентов и свойств, обеспечивающих высокую природную поглотительную способность почв (черноземы) по отношению к катионам, делает внесение органоглин менее эффективным.

4. При невысоком загрязнении свинцом органоглины в модификациях с кокоиминодипропионатом натрия, лаураминоксидом, кокоамфодиацетатом натрия и алкилполиглюкозидом показали свою эффективность в снижении подвижности Pb при дозе внесения 1%, что равнозначно внесению 20 тонн сорбента на 1 гектар площади почвы. Для высокого загрязнения (6 ОДК и более) рекомендуется внесение более 40 тонн на гектар с более длительным временем инкубации.

5. В дозе, не превышающей 1-3%, органоглины будут безопасны и эффективны для очистки сточных вод, содержащих тяжелые металлы.

6. В дозе, не превышающей 1-3%, органоглины на основе амфотерных и неионогенных сурфактантов будут безопасны и эффективны для очистки сточных вод, содержащих некоторые полициклические ароматические углеводороды (нафталин и бенз(а)пирен).

5 РИД И ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ РАБОТЫ

РИД:

1. Биосорбция ионов кадмия штаммами рода *Bacillus*. Атрощенко Ю.М., Барахов А.В., Бурачевская М.В., Герцен М.М., Коцарев В.И., Козьменко С.В., Минкина Т.М., Переломов Л.В. Свидетельство о регистрации базы данных RU 2024624217, 27.09.2024. Заявка от 24.09.2024.
2. Показатели адсорбции бенз(а)пирена различными органоглинами. Атрощенко Ю.М., Барахов А.В., Бурачевская М.В., Герцен М.М., Дудникова Т.С., Козьменко С.В., Меженков А.А., Минкина Т.М., Переломов Л.В. Свидетельство о регистрации базы данных RU 2024624375, 14.10.2024. Заявка от 25.09.2024.
3. Показатели адсорбции нафталина различными органоглинами. Атрощенко Ю.М., Барахов А.В., Бурачевская М.В., Герцен М.М., Дудникова Т.С., Козьменко С.В., Меженков А.А., Минкина Т.М., Переломов Л.В. Свидетельство о регистрации базы данных RU 2024624376, 14.10.2024. Заявка от 26.09.2024.

Публикации в изданиях, индексируемых Scopus:

1. Dudnikova T., Burachevskaya M., Minkina T., Mandzhieva S., Zamulina I., Perelomov L., Gertsen M. Sorption Properties of Bentonite-Based Organoclays with Amphoteric and Nonionic Surfactants in Relation to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons // Minerals. – 2024. № 14: 1132.
<https://doi.org/10.3390/min14111132>
2. Gertsen M., Perelomov L., Kharkova A., Burachevskaya M., Hemalatha S., Atroshchenko Y. Removal of Lead Cations by Novel Organoclays Derived from Bentonite and Amphoteric and Nonionic Surfactants // Toxics. – 2024. - № 12: 713.
<https://doi.org/10.3390/toxics12100713>

3. Perelomov L, Gertsen M, Burachevskaya M, Hemalatha S, Vijayalakshmi A, Perelomova I, Atroshchenko Y. Organoclays Based on Bentonite and Various Types of Surfactants as Heavy Metal Remedants // Sustainability. – 2024. – № 16(11): 4804. <https://doi.org/10.3390/su16114804>
4. Al-Khoury R. R., Jaafar A. A. K., Salim S., Mandzhieva S., Barakhov A., Perelomov L., Rajput V. D. Chronical Soil Pollution with Chromium in the Tanneries Area: a Case Study in Damascus, Syria // Eurasian Soil Science. – 2024. – Т. 57. – №. 9. – С. 1538-1550. <https://doi.org/10.1134/S1064229324600465>
5. Kumar S. Arutselvan R., Greeshma K., Bodhankar Shrey, Akash A. U., Prasad Vurukonda Sai Shiva Krishna, Nehela Yasser, Singh Udai B., Bhupenchandra Ingudam, Sen Arnab, Rajput Laxman Singh, Burachevskaya Marina, Minkina Tatiana, Keswani Chetan. Unraveling the Seed Bio-priming Contours for Managing Plant Health // Journal of Plant Growth Regulation. – 2024. – С. 1-50. <https://doi.org/10.1007/s00344-024-11277-z>
6. Шабанов М. В., Маричев М. С., Бурачевская М. В., Бауэр Т. В., Минкина Т. М. Подвижность, биодоступность, экологические риски кадмия и свинца в почвах Соймоновской долины (г. Карабаш) // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). – 2025. – №4. Статья принята к публикации.

Главы в монографиях:

1. Singh O., Singh S., Shahi U. P., Singh R., Singh P. K., Grigoryan K. K., Khachatryan H., Rajput P., Perelomov L., Kozmenko S., & Burachevskaya M. (2024). Nanotechnological Innovations for Soil Pollution Remediation and Environmental Conservation. In book: V. Rajput, A. Singh, K. Ghazaryan, A. Alexiou, & A. Said Al-Tawaha (Eds.), Harnessing NanoOmics and Nanozymes for Sustainable Agriculture (pp. 237-255). IGI Global. <https://doi.org/10.4018/979-8-3693-1890-4.ch012>

2. Saha, A., Ghosh, S., Sahoo, C., Saini, A., Burachevskaya, M. (2024). Sustainable Soil Amendments and Crop Productivity. In book: Sustaining Agriculture: Food Security, Biodiversity and Climate Change, Jatav, H.S. et al. Deepika Book Agency, Rana Park, Siraspur, Delhi- 110042 India, Page: 1-16, ISBN: 978-81-976745-7-0.

3. Shobhna, Salaria M., Sharma T., Banik D., Mehta C.M., Burachevskaya M. (2024). Nanomaterial interactions with plant systems: uptake, transport and accumulation. In book: Biogenic Nanoparticles: Interplay with Climate Change and Implications for Human Health, (Editors: Vishnu D. Rajput, Abhishek Singh, Karen Ghazaryan, Athanasios Alexiou, Tatiana Minkina), 425 p., Elsevier. ISBN: 9780443338199, eBook ISBN: 9780443338205.

Монография:

1. Jatav, H.S., Singh, H., Attar, S.K., Rajput, V.D., Burachevskaya, M. (2024). Sustaining Agriculture: Food Security, Biodiversity and Climate Change. Page: 1-307 Publisher: Deepika Book Agency, Regd. Office: C-21, Rana Park, Siraspur, Delhi- 110 042 India. ISBN: 978-81-976745-7-0

Публикации в изданиях, индексируемых РИНЦ:

1. Герцен М.М., Переломов Л.В., Бурачевская М.В. ИК-спектроскопия исходных и модифицированных анионными ПАВ глин // Молодежь и системная модернизация страны. Сборник научных статей 8-й Международной научной конференции студентов и молодых ученых. В 4-х томах. Курск, 2024, С. 87-90.

2. Герцен М.М., Переломов Л.В., Бурачевская М.В. Адсорбция катионов свинца синтезированными органоглинами на основе амфотерных ПАВ. Сборник научных статей Международной научно-технической конференции молодых ученых БГТУ им. В.Г. Шухова, Белгород, 2024. С. 28-31.

3. Герцен М.М., Переломов Л.В. Рост бактерий *Pseudomonas* в присутствии гумусовых кислот в условиях пониженной температуры. В сборнике: Экология и природопользование: устойчивое развитие сельских территорий. Сборник статей по материалам IV Всероссийской научно-практической конференции. Краснодар, 2024. С. 16-20.
4. Герцен М.М., Переломов Л.В., Бурачевская М.В. В. И. Влияние лаураминооксида на сорбционную способность глин по отношению к катионам свинца. Сборник III международной молодежной научной школы «Мониторинг, охрана и восстановление почвенных экосистем в условиях антропогенной нагрузки» Геленджик, 7–9 июня 2024 г. Ростов-на-Дону – Таганрог: Издательство Южного федерального университета, 2024. С. 10-12.
5. Переломов Л.В., Герцен М.М., Бурачевская М.В., Сизова О.И., Козьменко С.В., Атрощенко Ю.М. Влияние бактерий на поглощение тяжелых металлов бентонитом. Сборник III международной молодежной научной школы «Мониторинг, охрана и восстановление почвенных экосистем в условиях антропогенной нагрузки» Геленджик, 7–9 июня 2024 г. Ростов-на-Дону – Таганрог: Издательство Южного федерального университета, 2024. С. 86-88.
6. Козьменко С.В., Переломов Л.В., Бурачевская М.В., Коцарев В. И. Влияние органоглин на основе бентонита, модифицированных амфотерными ПАВ на почвенную микробиоту. Сборник II Международной Конференции «Проблемы и перспективы устойчивого развития почвенного покрова горных и равнинных территорий», г. Геленджик 4-6 июня 2024 г. Ростов-на-Дону – Таганрог: Издательство Южного федерального университета, 2024. С. 171-172.
7. Герцен М.М., Каледин Ю.В., Переломов Л.В. Оценка влияния гуминовых кислот тростникового торфа на рост нефтедеструкторов рода *Pseudomonas*. В сборнике: Поколение будущего: Взгляд молодых ученых-2024. Сборник

научных статей 13-й Международной молодежной научной конференции. В 4-х томах. Курск, 2024. С. 92-94.

8. Герцен М.М., Переломов Л.В. оценка процесса сорбции катионов свинца на органоглинах на основе бентонита и неионогенных ПАВ моделью БЭТ // Проблемы агрохимии и экологии. 2024. № 4. С. 16-19.

9. Герцен М.М., Переломов Л.В. Влияние солености среды на рост микроорганизмов-нефтедеструкторов в присутствии гумусовых кислот. В сборнике: Современные проблемы естественных наук и фармации. сборник статей Всероссийской научной конференции. Йошкар-Ола, 2024. С. 241-243.

10. Герцен М.М., Переломов Л.В., Бурачевская М.В. Влияние анионных ПАВ на поглощение катионов свинца органоглинами. В сборнике: Современные проблемы естественных наук и фармации. сборник статей Всероссийской научной конференции. Йошкар-Ола, 2024. С. 124-126.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных исследований были изучены адсорбционные свойства по отношению к катионам тяжелых металлов (на примере свинца) ряда бактерий, био-минеральных и био-органо-минеральных комплексов на основе бентонита, органоглин и бактериальных клеток.

Установлено, что клетки бактерий *Rhodococcus qingshengii*, добавленные к исходному бентониту, увеличивают сорбционную емкость минерала. В тоже время микроорганизмы, добавленные к органоглине, уменьшают поглощение ею свинца, очевидно маскируя сорбционные позиции.

Процесс биосорбции меди и кадмия бактериями рода *Bacillus* удовлетворительно описывается как уравнением Ленгмюра, так и уравнением Фрейндлиха. В выбранном для эксперимента интервале исходных концентраций величины максимальной адсорбции меди всеми видами бактерий приблизительно равны с наибольшими значениями у *Bacillus thuringiensis*. Согласно модели Ленгмюра наибольшее значение максимальной адсорбции кадмия характерно также для *Bacillus thuringiensis*.

Результаты эксперимента показали, что наиболее низкое количество бактериальных клеток по сравнению с чистым бентонитом иммобилизовано на органоглине с лаураминоксидом и органоглине с алкилполиглюкозидом. Преадсорбция органических питательных веществ (глюкозы и казаминовых кислот) благоприятно сказывается на иммобилизации консорциума бактерий на глинистых минералах.

Проведена апробация разработанных органо-минеральных сорбентов для ремедиации загрязненных пахотных почв разных типов Тульской и Ростовской областей и очистки сточных вод Тульской области. При использовании в количестве менее 3% (по массе) токсические свойства большинства органоглин не проявляются. На снижение токсичных форм свинца оказывает влияние доза загрязнения, время инкубации и тип почвы.

Внесение органоглин при высокой дозе загрязнения является более эффективным для снижения подвижных форм свинца в малобуферных дерново-подзолистых почвах.

В вариантах с внесением 3 ОДК Рb на черноземе обыкновенном уже при дозе 1% сорбентов уровень содержания обменных форм ТМ не превышал ПДК для почвы (на вариантах с внесением органоглин с кокоиминодипропионатом натрия, лаураминоксидом, кокоамфодиацетатом натрия и алкилполиглюкозидом), при дозе 2% сорбентов – во всех вариантах опыта, что указывает на способность применяемых органоглин прочно закреплять на своей поверхности металлы и уменьшать их мобильность и биологическую доступность в загрязненных почвах. Наибольшее снижение подвижности металлов наблюдалось при дозе применения 3 ОДК металла при внесении 2% сорбентов. При высоком загрязнении (6 ОДК металла) при внесении сорбентов наблюдается снижение долей всех непрочно связанных соединений, особенно активно - наиболее подвижных обменных соединений. При невысоком загрязнении органоглины с кокоиминодипропионатом натрия, лаураминоксидом, кокоамфодиацетатом натрия и алкилполиглюкозидом показали свою эффективность в снижении подвижности Рb при дозе внесения 1%, что соответствует внесению 20 тонн сорбента на 1 гектар площади почвы. Для высокого загрязнения (6 ОДК и более) рекомендуется внесение более 40 тонн на гектар с более длительным временем инкубации.

Использование органоглин для очистки сточных вод очистных сооружений канализации приводит к снижению содержания в них тяжелых металлов до уровня, ниже гигиенических нормативов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- 1 Guégan R. Organoclay applications and limits in the environment // Comptes Rendus Chimie. – 2019. - V. 22. - Issues 2–3. – P. 132-141.
doi:10.1016/j.crci.2018.09.004
- 2 Gertsen M., Perelomov L., Kharkova A., Burachevskaya M., Hemalatha S., Atroshchenko Y. Removal of Lead Cations by Novel Organoclays Derived from Bentonite and Amphoteric and Nonionic Surfactants // Toxics. – 2024. - № 12: 713.
<https://doi.org/10.3390/toxics12100713>
- 3 Dudnikova T.; Burachevskaya M.; Minkina T.; Mandzhieva S.; Zamulina I.; Perelomov L.; Gertsen M. Sorption Properties of Bentonite-Based Organoclays with Amphoteric and Nonionic Surfactants in Relation to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons // Minerals. – 2024. № 14: 1132.
<https://doi.org/10.3390/min14111132>
- 4 Qu C., Du H., Ma M., Chen W., Cai P., & Huang Q. (2018). Pb sorption on montmorillonite-bacteria composites: A combination study by XAFS, ITC and SCM // Chemosphere. – 2018. – V. 200. – P. 427–436.
doi:10.1016/j.chemosphere.2018
- 5 Priester J.H., Olson S.G., Webb S.M., Neu M.P., Hersman L.E., Holden P.A. Enhanced exopolymer production and chromium stabilization in *Pseudomonas putida* unsaturated biofilms // App. Environ. Microb. – 2006. – V. 72. - P. 1988-1996.
- 6 Huang Q., Wu H., Cai P., Fein J.B., Chen W. Atomic force microscopy measurements of bacterial adhesion and biofilm formation onto clay-sized particles // Sci. Rep. – 2015. - № 5. - P. 16857.
- 7 Konhauser K.O., Urrutia M.M. Bacterial clay authigenesis: a common biogeochemical process // Chem. Geol. – 1999. – V. 161. – P. 399-413.
- 8 Alimova A., Roberts M., Katz A., Rudolph E., Steiner J., Alfano R., Gottlieb P. Effects of smectite clay on biofilm formation by microorganisms // Biofilms. – 2006. - № 3. - P. 47-54.
- 9 Ohnuki T., Yoshida T., Ozaki T., Kozai N., Sakamoto F., Nankawa T., Suzuki Y., Francis A.J. Chemical speciation and association of plutonium with bacteria, kaolinite clay, and their mixture // Environ. Sci. Technol. – 2007. – V. 41. - P. 3134-3139.
- 10 Alessi, D. S., Fein, J. B. Cadmium adsorption to mixtures of soil components: Testing the component additivity approach // Chem. Geol. – 2010. - V. 270. – P. 186-195.

11 Fang, L., Cai, P., Li, P., Wu, H., Liang, W., Rong, X., Chen, W., and Huang, Q. Microcalorimetric and potentiometric titration studies on the adsorption of copper by *P. putida* and *B. thuringiensis* and their composites with minerals // *J. Hazard. Mater.* – 2010. – V. 181. – P. 1031-1038.

12 Qu, C., Ma, M., Chen, W., Cai, P., Huang, Q. Surface complexation modeling of Cu(II) sorption to montmorillonite–bacteria composites // *Sci. Total Environ.* - 2017. - V. 607. P. 1408-1418.

13 Perelomov L.V., Sizova O.I., Atroshchenko Y.M. Adsorption of Trace Elements by Bentonite in the Presence of Bacteria // *Geochemistry International.* – 2019. – V. 57(3). – P. 290–297.

<https://doi.org/10.1134/S001670291903008X>

14 Beveridge T. Interactions of metal ions with components of bacterial cellwalls and their biomineralization // *Metal-Microbe Interactions.* – Spec. Publ. Soc. Gen. Microbiol., 1989. – P. 65–83.

15 Dong H. Clay-microbe interactions and implications for environmental mitigation // *Elements.* – V. 8(2). – P. 113–118.

<https://doi.org/10.2113/gselements.8.2.113>

16 Ledin M., Krantz-Rulcker C., Allard B. Zn, Cd and Hg accumulation by microorganisms, organic and inorganic soil components in multi-compartment systems // *Soil Biol. Biochem.* – 1996. – V. 28(6). – P. 791–799.

[https://doi.org/10.1016/0038-0717\(96\)00016-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(96)00016-8)

17 Walker S.G., Flemming C.A., Ferris F.G., Beveridge T.J., Bailey G.W. // Physicochemical interaction of *Escherichia coli* cell envelopes and *Bacillus subtilis* cell walls with two clays and ability of the composite to immobilize heavy metals from solution // *Appl. Environ. Microbiol.* –1989. – V. 55(11). – P. 2976–2984.

<https://doi.org/10.1128/aem.55.11.2976-2984.1989>

18 Kurek E., Czaban J., Bollag J.M. Sorption of cadmium by microorganisms in competition with other soil constituents // *Appl Environ Microbiol.* – 1982. – V. 43(5). – P. 1011–1015.

<https://doi.org/10.1128/aem.43.5.1011-1015.1982>

19 Kurek E., Kaczorowska R., Nadulska I., Ochal M., Puacz E., Patkowska E. Retention of Cd by soil constituents under different environmental conditions // *Chemosphere.* – 1996. – V. 33(2). – P. 277–284.

[https://doi.org/10.1016/0045-6535\(96\)00170-1](https://doi.org/10.1016/0045-6535(96)00170-1)

20 Calmano W., Ahlf W., Förstner U. Study of metal sorption/desorption processes on competing sediment components with a multi-chamber device // *Environ. Geol. Water Sci.* – 1988. – V. 11. – P. 77–84.

<https://doi.org/10.1007/BF02587766>

21 Morley G.F., Gadd G.M. Sorption of toxic metals by fungi and clay minerals // *Mycological Research*. – 1995. – V. 99(12). – P. 1429–1438.

[https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80789-2](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80789-2)

22 Добровольский В.В. География почв с основами почвоведения. – М.: Гуманитарный изд. центр “ВЛАДОС”, 2001. – 384 с.

23 Переломов Л.В., Переломова И.В., Пинский Д.Л. Молекулярные механизмы взаимодействия между микроэлементами и микроорганизмами в биокосных системах (биосорбция и биоаккумуляция) // *Агрохимия*. – 2013. – № 3. – С. 80–94.

24 Aryal M., Liakopoulou-Kyriakides M. Bioremoval of heavy metals by bacterial biomass // *Environ. Monit. Assess.* – 2015. – V. 187. – 4173.

<https://doi.org/10.1007/s10661-014-4173-z>

25 Vijayaraghavan K., Yun Y.S. Bacterial biosorbents and biosorption // *Biotechnol. Adv.* – 2008. – V. 26(3). – P. 266–291.

<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.02.002>

26 Van Hullebusch E.D., Zandvoort M.H., Lens P.N. Metal immobilisation by biofilms: Mechanisms and analytical tools // *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* – 2003. – V. 2. – P. 9–33.

<https://doi.org/10.1023/B:RESB.0000022995.48330.55>

27 Beveridge T., Murray R. Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis* // *J. Bacteriol.* – 1980. – V. 141(2). – P. 876–887.

<https://doi.org/10.1128/jb.141.2.876-887.1980>

28 Schultze-Lam S., Fortin D., Davis B.S., Beveridge T.J. Mineralization of bacterial surfaces // *Chem. Geol.* – 1996. – V. 132(1–4). – P. 171–181.

[https://doi.org/10.1016/S0009-2541\(96\)00053-8](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(96)00053-8)

29 Flemming H.C. Sorption sites in biofilms // *Water Sci. Tech.* – 1995. – V. 32(8). – P. 27–33.

[https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00004-2](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00004-2)

30 Scott J., Sage G., Palmer S. Metal immobilisation by microbial capsular coatings // *Biorecovery*. – 1988. – V. 1(1). – P. 51–58.

31 Geesey G.G., Jang L., Jolley J.G., Hankins M.R., Iwaoka T., Griffiths P.R. Binding of metal ions by extracellular polymers of biofilm bacteria // *Water Sci. Technol.* – 1988. – V. 20(11–12). – P. 161–165.

<https://doi.org/10.2166/wst.1988.0279>

32 Späth R., Flemming H.C., Wuertz S. Sorption properties of biofilms // *Water Sci. Technol.* – 1998. – V. 37(4–5). – P. 207–210.

[https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(98\)00107-3](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(98)00107-3)

33 Liu Y., Lam M.C., Fang H.H. Adsorption of heavy metals by EPS of activated sludge // *Water Sci. Technol.* – 2001. – V. 43(6). – P. 59–66.

34 Filote C., Roşca M., Hlihor R.M., Cozma P., Simion I.M., Apostol M., Gavrilesco M. Sustainable application of biosorption and bioaccumulation of persistent pollutants in wastewater treatment: Current Practice // *Processes.* – 2021. – V. 9(10). – P. 1696.

<https://doi.org/10.3390/pr9101696>

35 Lion L., Rochlin K. Adsorption of Pb (II) by a marine bacterium: the effect of cell concentration and pH // *Estuarine, Coastal and Shelf Science* – 1989. – V. 29(1). – P. 11–22.

[https://doi.org/10.1016/0272-7714\(89\)90070-X](https://doi.org/10.1016/0272-7714(89)90070-X)

36 Ledin M. Metal Accumulation by microorganisms – characteristics and implications for soil systems: PhD Thesis // *Linkoping studies in arts and science.* – 1994. – V. 111. – P. 60.

37 Santana-Casiano J.M., Gonzalez-Davila M., Perez-Pena J., Milleron F.J. Pb²⁺ interactions with the marine phytoplankton *Dunaliella tertiolecta* // *Mar. Chem.* – 1995. – V. 48(2). – P. 115–129.

[https://doi.org/10.1016/0304-4203\(95\)91418-K](https://doi.org/10.1016/0304-4203(95)91418-K)

38 Ou L.T., Marquis R.E. Electromechanical interactions in cell walls of Gram-positive cocci // *J. Bacteriol.* – 1970. – V. 101(1). – P. 92–101.

<https://doi.org/10.1128/jb.101.1.92-101.1970>

39 Volesky B., May-Phillips H.A. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae* // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 1995. – V. 42. – P. 797–806.

<https://doi.org/10.1007/BF00171964>

40 Shuttleworth K.L, Unz R.F. Sorption of heavy metals to the filamentous bacterium *Thiothrix* strain A1 // *Appl Environ Microbiol.* – 1993. – V. 59(5). – P. 1274–1282.

<https://doi.org/10.1128/aem.59.5.1274-1282.1993>

41 Garnham G., Codd G., Gadd G. Accumulation of technetium by cyanobacteria // *J Appl Phycol.* – 1993. – V. 5(3). – P. 307–315.

<https://doi.org/10.1007/BF02186233>

42 McLean R.J., Beauchemin D., Beveridge T.J. Influence of oxidation state on iron binding by *Bacillus licheniformis* capsule // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1992. – V. 58(1). – P. 405–408.

<https://doi.org/10.1128/aem.58.1.405-408.1992>

43 Krauter P., Martinelli R., Williams K., Martins S. Removal of Cr (VI) from ground water by *Saccharomyces cerevisiae* // Biodegradation. – 1996. – V. 7(4). – P. 277–286.

<https://doi.org/10.1007/bf00115741>

44 Gauthier M., Clement R., Flatau G., Amiard J.-C. Cadmium accumulation by Gram-negative marine bacteria related to their metal sensitivity and respiratory type // Oceanol. Acta. – 1986. – V. 9(3). – P. 333–337.

45 Kapoor A., Viraraghavan T. Fungal biosorption – an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review // Bioresour. Technol. – 1995. – V. 53(3). – P. 195–206.

[https://doi.org/10.1016/0960-8524\(95\)00072-M](https://doi.org/10.1016/0960-8524(95)00072-M)

46 Plette A., Haanstra L., van Beelen P., van Riemsdijk W. Sorption of metal ions by intact cells: II // Cadmium and zinc interactions with a Gram-positive soil bacterium. – Wageningen: Landbouwniversiteit Wageningen, 1996. – P. 84–105.

47 Zhu N., Zhang B., Yu Q. Genetic engineering-facilitated coassembly of synthetic bacterial cells and magnetic nanoparticles for efficient heavy metal removal // ACS Appl. Mater. Interfaces. – 2020. – V. 12(20). – P. 22948–22957.

<https://doi.org/10.1021/acsami.0c04512>

48 Giese E.C., Silva D.D.V., Costa A.F.M., Almeida S.G.C., Dussan K.J. Immobilized microbial nanoparticles for biosorption // Crit. Rev. Biotechnol. – 2020. – V. 40(5). – P. 653–666.

<https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1751583>

49 Stotzky G. Influence of soil mineral colloids on metabolic processes, growth, adhesion, and ecology of microbes and viruses // Interactions of soil minerals with natural organics and microbes. – Madison, WI, 1986. – P. 305–428.

<https://doi.org/10.2136/sssaspecpub17.c10>

50 van Loosdrecht M.C., Lyklema J., Norde W., Zehnder A. J. Influence of Interfaces on Microbial Activity // Microbiological Reviews. – 1990. – V. 54(1). – P. 75–87.

<https://doi.org/10.1128/mr.54.1.75-87.1990>

51 Fomina M., Skorochood I. Microbial Interaction with Clay Minerals and Its Environmental and Biotechnological Implications // Minerals. – 2020. – V. 10(10). – P. 861.

<https://doi.org/10.3390/min10100861>

52 Perelomov L.V. The role of interactions between bacteria and clay minerals in pedochemical processes // Geochemistry International. – 2023. – V. 61. – P. 1026–1035.

<https://doi.org/10.1134/S0016702923100105>

53 Dalton H.M., March P.E. Molecular genetics of bacterial attachment and biofouling // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 1998. – V. 9(3). – P. 252–255.

[https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(98\)80055-4](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(98)80055-4)

54 Ильина Т.С., Романова Ю.М. Бактериальные биопленки: роль в хронических инфекционных процессах и поиск средств борьбы с ними // *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* – 2021. – № 39(2). – С. 14–24.

<https://doi.org/10.17116/molgen20213902114>

55 Gottenbos B., van der Mei H.C., Busscher H.J. Initial adhesion and surface growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* on biomedical polymers // *J Biomed Mater Res.* – 2000. – V. 50(2). – P. 208–214.

[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4636\(200005\)50:2%3C208::aid-jbm16%3E3.0.co;2-d](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(200005)50:2%3C208::aid-jbm16%3E3.0.co;2-d)

56 Kirov S.M. Bacteria that express lateral flagella enable dissection of the multifunctional roles of flagella in pathogenesis // *FEMS Microbiol Let.* – 2003. – V. 224(2). – P. 151–159.

[https://doi.org/10.1016/s0378-1097\(03\)00445-2](https://doi.org/10.1016/s0378-1097(03)00445-2)

57 Garrett T.R., Bhakoo M., Zhang Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces // *Progress in Natural Science.* – 2008. – V. 18(9). – P. 1049–1056.

<https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2008.04.001>

58 An Y.H., Friedman R.J. Laboratory methods for studies of bacterial adhesion // *J. Microbiol. Meth.* – 1997. – V. 30(2). – P. 141–152.

[https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(97\)00058-4](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(97)00058-4)

59 De Weger L.A., van der Vlugt C.I., Wijfjes A.H., Bakker P.A., Schippers B., Lugtenberg B. Flagella of a plant-growth-stimulating *Pseudomonas fluorescens* strain are required for colonization of potato roots // *Journal of Bacteriology.* – 1987. – V. 169(6). – P. 2769–2773.

60 Ganesh C.K., Anand S.K. Significance of microbial biofilms in food industry a review // *Int. J. Food Microbiol.* – 1998. – V. 42. – P.9-27.

61 Liu Y., Yang S., Xu H., Qin L., Tay J.-H. The influence of cell and substratum surface hydrophobicities on microbial attachment // *J. Biotechnol.* – 2004. – V. 110(3). – P. 251–256.

<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.02.012>

62 Bejarano A., Sauer U., Mitter B., Preininger C. Parameters influencing adsorption of *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN onto bentonite, silica and talc for microbial inoculants // *Appl. Clay Sci.* – 2017. – V. 141. – P. 138–145.

<https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.02.022>

63 Karaguler T., Kahraman H., Tuter M. Analyzing effects of ELF electromagnetic fields on removing bacterial biofilm // *Biocybern. Biomed. Eng.* – 2017. – V. 37(2). – P. 336–340.

<https://doi.org/10.1016/j.bbe.2016.11.005>

64 Ransom B., Bennett R.H., Baerwald R., Hulbert M.H., Burkett P.J. In situ conditions and interactions between microbes and minerals in fine-grained marine sediments: A TEM microfabric perspective – *American Mineralogist.* – 1999. – V. 84(1–2). – P. 183–192.

<https://doi.org/10.2138/am-1999-1-220>

65 Зубкова Т.А., Карпачевский Л.О. Матричная организация почв. – М.: Русаки, 2001. – 296 с.

66 Perelomov L., Mandzhieva S., Minkina T., Atroshchenko Y., Perelomova I., Bauer T., Pinsky D., Barakhov A. The synthesis of organoclays based on clay minerals with different structural expansion capacities // *Minerals.* – 2021. – V. 11(7). – 707.

<https://doi.org/10.3390/min11070707>

67 Pasket A., Zhang H., Wang Y., Krzmarzick M., Gustafson J.E., Deng S. Clay content played a key role governing sorption of ciprofloxacin in soil // *Front. Soil Sci.* – 2022. – V. 2. – 814924.

<https://doi.org/10.3389/fsoil.2022.814924>

68 Sarkar B., Megharaj M., Shanmuganathan D., Naidu R. Toxicity of organoclays to microbial processes and earthworm survival in soils // *Journal of hazardous materials.* – 2013. – V. 261. – P. 793–800.

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.11.061>

69 Biswas B., Chakraborty A., Sarkar B., Naidu R. Structural changes in smectite due to interaction with a biosurfactant-producing bacterium *Pseudoxanthomonas kaohsiungensis* // *Applied Clay Science.* – 2017. – V. 136. – P. 51–57.

<https://doi.org/10.1016/j.clay.2016.11.008>

70 Omarova M., Swientoniewski L.T., Tsengam I.K.M., Panchal A., Yu T., Blake D.A., John V. Engineered clays as sustainable oil dispersants in the presence of model hydrocarbon degrading bacteria: the role of bacterial sequestration and biofilm formation // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering.* – 2018. – V. 6(11). – P. 14143–14153.

<https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b02744>

71 Isom C.M., Fort B., Anderson G.G. Evaluating metabolic pathways and biofilm formation in *Stenotrophomonas maltophilia* // *Journal of Bacteriology*. – 2022. – V. 204(1). – e0039821.

<https://doi.org/10.1128/jb.00398-21>

72 Merritt J.H., Brothers K.M., Kuchma S.L., O'Toole G.A. SadC reciprocally influences biofilm formation and swarming motility via modulation of exopolysaccharide production and flagellar function // *Journal of Bacteriology*. – 2007. – V. 189(22). – P. 8154–8164.

<https://doi.org/10.1128/jb.00585-07>

73 Доклад об экологической ситуации в Тульской области за 2021 год: <https://ekolog.tularegion.ru/upload/iblock/72a/erl670bzrratu3vglb15q5j1fi125oqu.pdf> Дата обращения – 04.12.2024 г.

74 Золотарева Б.Н. Тяжелые металлы в почвах Верхнеокского бассейна // *Почвоведение*. – 2003. – № 2. – С. 173–182.

75 Учватов В.П. Природные и антропогенные потоки вещества в ландшафтах Русской равнины: дис. д-ра биол. наук: 04.00.03. – Пушино, 1994. – 471 с.

76 Переломов Л. В., Пинский Д. Л., Переломова И. В., Атрощенко Ю. М. Тяжелые металлы в аллювиальных луговых почвах реки Упа в зоне индустриального воздействия // *Агрохимия*. – 2020. – № 12. – С. 64–70.

77 Арляпов В.А., Волкова Е.М., Нечаева И.А., Скворцова Л.С. Содержание тяжелых металлов в почве как индикатор антропогенного загрязнения Тульской области // *Известия Тульского государственного университета. Естественные науки*. – 2015. – № 4. – С.194–204.

78 Винокурова В.С., Рылеева Е.М., Доможилов Н.В. Основные источники загрязнения поверхностных вод и анализ их влияния на гидросферу Тульской области // *Современные проблемы экологии: доклады XXVI всерос. науч.-практич. конференции под общ. ред. В.М. Панарина*. – Тула: Инновационные технологии. – 2021. – С. 71–75.

79 Еськов Е.К., Еськова М.Д. Содержание тяжелых металлов в естественных водных объектах, расположенных вблизи крупных городов // *Вода: химия и экология*. – 2013. – №1. – С. 115–118.

80 Соколов А.В. Агрохимические методы исследования почв. – Изд-е 5-е. – М.: Наука, 1975. – 656 с.

81 ГОСТ Р 50686-94. Почвы. Определение подвижных соединений цинка по методу Крупского и Александровой в модификации ЦИНАО. - М.: Издательство стандартов, 1994. - 13 с.

82 СанПиН 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания. – 2021. - URL: www.pravo.gov.ru (Дата обращения 26.12.2024).

83 Завгородняя Ю. А., Степанов А. А., Трофимов С. Я., Фарходов Ю. Р., Первакова В. Н., Соколова Т. А., Аптикаев, Р. С. Влияние внесения глинистых минералов, минеральных удобрений и мелиоранта на разложение органических поллютантов в нефтезагрязненном песке в условиях модельного опыта // Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение. – 2017. – №. 1. – С. 39-46.

84 Ковалева Е. И., Перебасова П. М., Авдулов Д. А., Ладонин Д. В., Трофимов С. Я. Эффективность ремедиантов для детоксикации почв, загрязненных тяжелыми металлами, по результатам лабораторного эксперимента // Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение. – 2024. – №. 2. – С. 105-118.

85 Minkina T.M., Mandzhieva S.S., Burachevskaya M.V., Bauer T.V., Sushkova S.N. Method of determining loosely bound compounds of heavy metals in the soil // MethodsX. – 2018. - № 5. – P. 217-226.

86 McLaren R.G., Crawford D.V. Studies on soil copper. I. The fractionation of copper in soils // J. Soil Sci. 1973. - №24. - P. 172-181.

87 Minkina T., Mandzhieva, S., Chaplugin V., Motuzova G., Sushkova S., Fedorov Y., Kolesnikov S., Bauer T. Accumulation and distribution of heavy metals in plants within the technogenesis zone // Environmental Engineering and Management Journal. – 2014. – Vol. 13. – №.5. – P. 1307–1315.

88 Гигиенические нормативы ГН 2.1.5.1315-03 "Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования". https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_43149/ . Дата обращения 26.12.2024.

89 Mellis E.V., Casagrande J.C., Cruz M.C.P. Iron oxides, pH and organic matter effects on nickel adsorption // Conference proceedings “7th international Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements” / Uppsala, Sweden June (15-19.). 2003. - V. III. - P. 20-21

90 Гаврилюк Ф.Я., Вальков В.Ф., Клименко Г.Г. Генезис и бонитировка черноземов Нижнего Дона и Северного Кавказа / Ф.Я. Гаврилюк, В.Ф. Вальков, Г.Г. Клименко // Научные основы рационального использования черноземов. - Ростов-н/Д.: Изд-во Рост. ун-та, 1976. - С. 12-21.

91 Ладонин Д. В., Пляскина О. В. Фракционный состав соединений меди, цинка и свинца в некоторых типах почв при полиэлементном загрязнении // Вестник МГУ. Сер. 17. Почвоведение. – 2003. – №. 1. – С. 8-16.

92 Pinskii D. L., Minkina, T. M., Bauer, T. V., Nevidomskaya, D. G., Shuvaeva, V. A., Mandzhieva, S. S., Tsitsuashvili V. S., Burachevskaya M. V., Chaplygin V. A., Barakhov A. V., Veligzhanin A. A., Svetogorov R. D., Khramov E. V., Iovcheva, A. D. Identification of heavy metal compounds in technogenically transformed soils using sequential fractionation, XAFS spectroscopy, and XRD powder diffraction // Eurasian Soil Science. – 2022. – Т. 55. – №. 5. – С. 613-626.

93 Moon E.M., Peacock C.L. Adsorption of Cu (II) to ferrihydrite and ferrihydrite–bacteria composites: importance of the carboxyl group for Cu mobility in natural environments // Geochimica et Cosmochimica Acta. – 2012. - Vol. 92. - P. 203-219.